JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE.

HERAUSGEGEBEN VON

O. WALLACH, R. WILLSTÄTTER, H. WIELAND, A. WINDAUS UND H. FISCHER

BAND 477.

MIT 40 FIGUREN IM TEXT UND AUF EINER TAFEL.

1930

VERLAG CHEMIE, G. m. b. H., BERLIN

Printed in Germany

Digitized by Google

Alle Rechte, insbesondere das
der Übersetzung, vorbehalten.

Copyright by Verlag Chemie,
G. m. b. H., Berlin 1930.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig

Digitized by Google

Inhalt des 477. Bandes.

Seite

Heinrich Wieland und Karl Frage, Über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. XX. Beiträge zur Kenntnis der Bernsteinsäure-Dehydrase. Mit 8 Figuren im Text 1

Heinrich Wieland und Bruno Rosenfeld, Über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. XXI. Über die dehydrierenden Enzyme der Milch. Mit 12 Figuren im Text . . 32

Hans Lindemann und Helmut Baumann, Die stereoisomeren Resorcite und Phloroglucite 78

Walter Hückel, Otto Neunhoeffer, Achim Gercke und Ernst Frank, Änderungen des Molekülbaus bei chemischen Reaktionen I: Über thermische Zersetzung von Estern und dabei eintretende Umlagerungen. Mit 2 Figuren im Text. . 99

Richard Willstätter, Ernst Ulbrich, László Pogány und Carlo Maimeri, Über eine Umlagerung von Naphtochinonphenylhydrazonen 161

Rudolf Lemberg, Chromoproteide der Rotalgen. II. Spaltung mit Pepsin und Säuren. Isolierung eines Pyrrolfarbstoffs. Mit 10 Figuren im Text und 5 Figuren auf einer Tafel . . 195

A. Butenandt und F. Hildebrandt, Untersuchungen über pflanzliche Fisch- und Insektengifte. II. 2. Mitteilung über Rotenon, den physiologisch wirksamen Bestandteil der Derris elliptica. 245

A. Windaus, E. Auhagen, W. Bergmann und H. Butte, Über einige Umsetzungen des Dehydro-ergosterins und des Ergosterins. Mit 3 Figuren im Text 268

P. E. Verkade, J. Coops jr., Frau A. Verkade-Sandbergen und Chr. J. Maan, Calorimetrische Untersuchungen. XVII und XIX. Thermochemische Studien über Cycloparaffine und ihre Derivate 279

XVII. Experimentelle Daten für fünf- und sechsgliedrige cyclische Diacetate 279

XIX. Experimentelle Daten für fünf- und sechsgliedrige cyclische Dibenzoate 289

Digitized by Google

Alphabetisches Autorenregister.

Auhagen, E., siehe A. Windaus.
Baumann, H., siehe H. Lindemann.
Bergmann, W., s. A. Windaus.
Butenandt A., und E. Hildebrandt 245.
Butte, H., siehe A. Windaus.
Coops jr., J., siehe P. E. Verkade.
Frage, K., siehe H. Wieland.
Frank, E., siehe W. Hückel.
Gercke, A., siehe W. Hückel.
Hildebrandt, F., siehe A. Butenandt.
Hückel, W., O. Neunhoeffer, A. Gercke und E. Frank 99.
Lemberg, R. 195.
Lindemann, H., und H. Baumann 78.
Maan, C. J., siehe P. E. Verkade.
Maimeri, C., siehe R. Willstätter.
Neunhoeffer, O., siehe W. Hückel.
Pogány, B., siehe R. Willstätter.
Rosenfeld, B., siehe H. Wieland.
Ulbrich, E., siehe R. Willstätter.
Verkade, P. E., J. Coops jr., A. Verkade-Sandbergen und C. J. Maan 279. 289.
Verkade-Sandbergen, A., siehe P. E. Verkade.
Wieland, H., und K. Frage 1.
Wieland, H., und B. Rosenfeld 82.
Willstätter, R., E. Ulbrich, L. Pogány und C. Maimeri 161.
Windaus, A., E. Auhagen, W. Bergmann und H. Butte 268.

Digitized by Google

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN DER CHEMIE

477. Band

[Mitteilungen aus dem Chem. Laboratorium der Bayr. Akademie der Wissenschaften zu München.]

(Eingelaufen am 21. Oktober 1929.)

Über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. XX.
Beiträge zur Kenntnis der Bernsteinsäure-Dehydrase;

von *Heinrich Wieland* und *Karl Frage*.

Mit 8 Figuren im Text.

Im Zusammenhang mit dem Studium des dehydrierenden Enzyms der Essigsäure-Bakterien durch Wieland und Bertho[1]) haben wir uns, von ähnlichen Gesichtspunkten aus wie dort, mit der Dehydrase der tierischen Muskulatur beschäftigt. Wir haben die Kinetik der Bernsteinsäure-Dehydrierung bei Gegenwart verschiedener Wasserstoffacceptoren näher verfolgt und namentlich der durch Blausäure bewirkten Hemmung dieses Vorgangs unsere Aufmerksamkeit geschenkt.

F. G. Fischer[2]) hat vor 2 Jahren im hiesigen Laboratorium den Nachweis erbracht, daß die Dehydrierung von Bernsteinsäure mit Muskelgewebe durch Sauerstoff wie auch durch Methylenblau zu denselben Produkten, einem Gleichgewichtsgemisch von 25—30 Proc. Fumarsäure und 70—75 Proc. l-Äpfelsäure, führt. Damit ist die chemische

[1]) A. 467, 95 (1928); siehe auch A. Bertho, A. 474, 1 (1929).
[2]) B. 60, 2257 (1927).

Digitized by Google

Grundlage für eine vergleichende Untersuchung der Reaktion in Gegenwart jener beiden Wasserstoffacceptoren geschaffen; es ist kaum mehr zweifelhaft, daß es ein und dasselbe Ferment ist, das sich einmal des molekularen Sauerstoffs, das andere Mal des Farbstoffs zur chemischen Bindung des in der Bernsteinsäure aufgelockerten Wasserstoffs bedient.

Das Enzymmaterial. Da das nach den Angaben von Ohlsson[1]), Widmark[2]) und Grönvall[3]) mit $^{m}/_{15}$ sec. Natriumphosphat in geringer Menge aus dem Gewebe herauslösbare Ferment ungemein leicht ausflockt, mußten die Versuche mit der gut zerkleinerten und ausgiebig gewaschenen Muskulatur ausgeführt werden. Wir verwandten fast ausschließlich die Muskelpartie vom linken Ventrikel des Pferdeherzens, die sofort nach der Schlachtung in der von F. G. Fischer beschriebenen Weise unter Zusatz von Toluol verarbeitet wurde. Man wusch jeweils dreimal mit der 20fachen Menge destillierten, mit Toluol gesättigten Wassers, saugte dann auf der Nutsche scharf ab und gewann so ein recht haltbares Präparat von 16—17 Proc. Trockengehalt, das unter Toluol im Eisschrank aufbewahrt wurde.

Wenn man ein derart dargestelltes Präparat ohne weiteren Zusatz unter Sauerstoff schüttelt, so ist seine „Eigenatmung" so gering, daß sie bei unseren Versuchen vernachlässigt werden konnte. Dagegen ist die Sauerstoffaufnahme in Gegenwart von Succinat sehr bedeutend. Die Absorptionswerte ließen sich ausgezeichnet reproduzieren, wenn von demselben Präparat am gleichen Tage Proben entnommen wurden. Material von verschiedenen Tieren zeigte jedoch bedeutende Schwankungen, über deren Ursachen vielleicht eine besondere, ad hoc ausgeführte Untersuchung wird Auskunft geben können.

Beim Aufbewahren vermindert sich die Aktivität des Enzympräparates, am stärksten innerhalb der ersten 2 Tage, was wohl mit der Koagulation der Eiweißsubstanz zu-

---

[1]) Skand. Arch. 41, 77 (1921). [2]) Ebenda, 200.
[3]) Ebenda, 44, 200 (1923).

Digitized by Google

sammenhängt. Vom 3. Tage an ist die Wirksamkeit einigermaßen stabil geworden und verändert sich innerhalb weiterer 8 Tage nicht mehr erheblich, um dann, wohl infolge von Autolyse des Gewebes, langsam abzusinken. Nach 15 Tagen wurden noch 60—70, nach 40 Tagen noch 3—4 Proc. der ursprünglichen Wirkungsstärke festgestellt. Zu unseren vergleichenden Versuchen, die parallel gingen, wurde stets 3—10 Tage altes Material benutzt.

Höchst auffallend, aber mit den Angaben der schwedischen Forscher im Einklang ist die Tatsache, daß wir keinerlei Schädigung der Enzymwirkung durch Toluol wahrnehmen konnten, während A. Hahn und W. Haarmann[1]) bei ihren Präparaten von Muskulatur vom Rind eine vollkommene Hemmung der Dehydrasewirkung gegenüber Sauerstoff — nicht aber Methylenblau — gefunden haben. Die Ursache dieser Unstimmigkeit bleibt noch aufzuklären.

Über die *Abhängigkeit des Fermentes von der Acidität* liegen genaue Bestimmungen der Thunbergschen Schule vor, nach denen die Entfärbung von Methylenblau durch Succinat in schwach alkalischer Lösung ihr Optimum besitzt. Wir können diese Angaben auch für die Dehydrierung durch Sauerstoff bestätigen, die bei $p_H = 7{,}3—7{,}8$ mit der größten Geschwindigkeit vor sich geht. Bei $p_H = 6{,}3$ und 37° wurde nur noch $^1/_4$ der optimalen Geschwindigkeit festgestellt. Demgemäß wurde bei den hier ausgeführten Versuchen stets ein p_H von 7,4 eingehalten, das mit $^m/_{15}$-Phosphatpuffer eingestellt wurde.

Die Abhängigkeit der Reaktion vom Sauerstoffdruck, die bereits von Westerlund genauer studiert worden ist, haben wir nur in einem Vergleichsansatz von reinem Sauerstoff mit Luft geprüft.

Die Gefäße nach Barcroft-Warburg enthielten 0,5 g feuchtes Enzympräparat, 5 ccm $^m/_{25}$-Natrium-succinatlösung, die, wie oben erwähnt, gepuffert war. $T = 37{,}0°$. Die für die Total-Dehydrierung dieses Einsatzes erforderliche Menge Sauerstoff beträgt 2240 cmm.

Das nachstehende Kurvenbild, das die O_2-Aufnahme wiedergibt, läßt erkennen, daß die Dehydrierung durch

[1]) Z. B. 89, 164 (1929).

Digitized by Google

reinen Sauerstoff zu Anfang rascher verläuft als durch Luft, daß aber nach 75 Minuten in beiden Ansätzen die gleiche Gasmenge verbraucht ist. Der während der ersten $^3/_4$ der Reaktion von der Geraden nicht allzusehr abweichende Verlauf der Kurven deutet bereits an, daß die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration des Substrats nicht groß sein kann. Diese geringe Abhängigkeit kommt in einem neben den beschriebenen Ansätzen herlaufenden Versuch mit der halben Succinat-Konzentration ($^m/_{50}$-Lösung, unter Luft) deutlich zum Ausdruck (Fig. 2).

Über die *Kinetik des Sauerstoffverbrauchs*, die uns im Vergleich mit derjenigen der Methylenblau-Reaktion be-

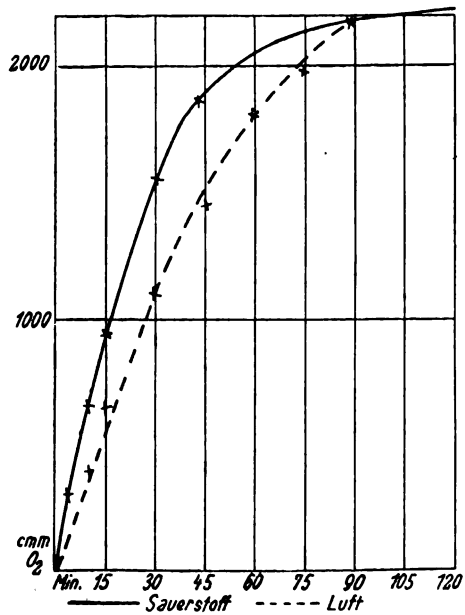


Fig. 1.

sonders interessierte, sagen diese Versuche nichts aus, da hier bei der Dehydrierung das Gas in praktisch gleichbleibender Konzentration zur Verfügung steht. Es war

Digitized by Google

daher notwendig, von einer gegebenen, auf das eingesetzte Succinat stöchiometrisch abgestimmten Menge Sauerstoff auszugehen und deren Verbrauch zeitlich zu verfolgen. So haben kürzlich Wieland und Bertho[1]) die Reaktionskinetik des Essigsäureferments untersucht, indem aus einer Reihe gleichartiger Ansätze, die zu Anfang mit dem Gas gesättigt waren, nach bestimmten Zeiten in je einer Lösung nach dem Winklerschen Verfahren der Sauerstoffgehalt über gebildetes Mangandioxyd jodometrisch bestimmt wurde. Diese Methode ließ sich im vorliegenden Falle nicht direkt anwenden, da das in der Lösung suspendierte Gewebe selbst Jod verbrauchte.

Um der so auftretenden Schwierigkeit Herr zu werden, änderten wir die Methode in der Weise um, daß wir den

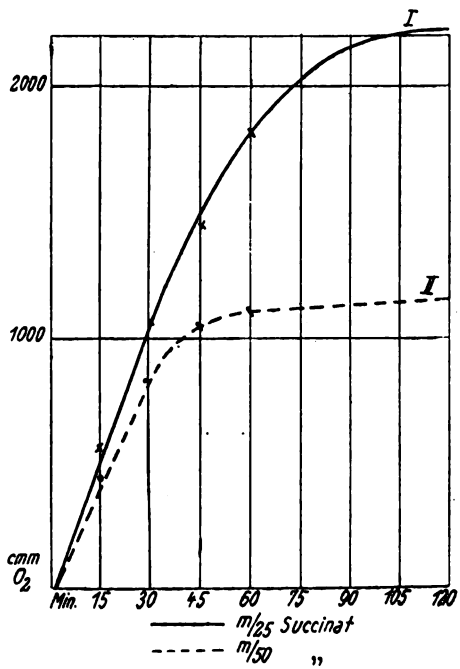


Fig. 2.

zu bestimmenden Sauerstoff aus dem Reaktionsgefäß in ein

[1]) A. 467, 99, 139 (1928).

Digitized by Google

angeschlossenes Vakuumgefäß saugten und in diesem titrierten.

In Pulverflaschen von ungefähr 100 ccm Inhalt, deren Stopfen gut eingeschliffen waren und deren Inhalt durch Glasperlen genau gleich eingestellt war, wurden je 10 g Muskelbrei und 90 ccm $^{m}/_{25}$-gepufferte Natriumsuccinatlösung, die vorher bei 37° im Thermostaten mit Sauerstoff gesättigt war, gefüllt. Die Reaktionsflüssigkeit wurde dann nochmals durch einen Strom reinen Sauerstoffs, der auf alle Gefäße einer Versuchsreihe gleichmäßig verteilt wurde, gesättigt, was nur wenige Minuten in Anspruch nahm. Darauf wurden die Glasstopfen fest in den Flaschenhals hineingepreßt, so daß ein kleiner Teil der Flüssigkeit herausfloß. Auf diese Weise bleibt keine Gasblase im Gefäß, worauf man sorgfältig zu achten hat. Die Flaschen werden hierauf mit befestigtem Stopfen jeweils die ihnen zugemessene Zeit im Thermostaten bei 37° geschüttelt. Zur Bestimmung des noch vorhandenen Sauerstoffs verbindet man die Reaktionsflasche durch ein Glasrohr mit Hahn, das in einem vorher genau eingepaßten Gummistopfen sitzt, mit einem Rundkolben von 0,5 Liter Inhalt, der ebenfalls durch ein Hahnrohr an die Hochvakuumpumpe angeschlossen werden kann. Eine dritte Bohrung in dem Gummistopfen des Rundkolbens dient zur Aufnahme eines kleinen Tropftrichters, durch den für jede Bestimmung 1 ccm KJ-haltige 20-proc. Natronlauge und 1 ccm 20-proc. Mangan-(II)-chlorid-Lösung in den evakuierten Kolben eingeführt werden können. Alle Anschlüsse und Schliffe müssen so dicht sein, daß bei der wiederholten Kontrolle das Vakuum in der ganzen Apparatur stundenlang voll erhalten bleibt.

Nachdem die Rundkolben evakuiert sind, läßt man reinen Stickstoff eintreten und stellt erst jetzt die für die Bestimmung erforderliche Gasleere her. Nach Ablauf der beabsichtigten Versuchsdauer wird der Glasstopfen der geschüttelten Flasche rasch durch den Gummistopfen des Verbindungsrohres ersetzt, dessen kurzer toter Raum diesseits des geschlossenen Hahns mit reinstem Stickstoff gefüllt ist. Einige Tropfen dabei austretender Flüssigkeit haben keinen beachtlichen Fehler zur Folge. Nun verbindet man die noch warme Flüssigkeit durch Öffnen des Hahns mit dem Vakuum und sorgt durch Schütteln beider Gefäße — die Reagenzien befinden sich bereits im evakuierten Kolben — für raschen Austritt und für rasche Absorption des Sauerstoffs, die nach 5 Minuten mit Sicherheit erreicht ist. Nachdem man schließlich durch den Tropftrichter 5 ccm 20-proc. Salzsäure hat einlaufen lassen, hebt man das Vakuum auf und titriert das ausgeschiedene Jod mit $^{n}/_{25}$-Thiosulfat und Stärke.

Bei einiger Übung und Vertrautheit mit der Apparatur läßt sich die O_2-Bestimmung schnell und mit gut übereinstimmenden Werten vornehmen.

Digitized by Google

Es wurden so 2 Reihen zu je 8 Einzelansätzen kurz hintereinander mit demselben Enzympräparat durchgeführt. Die Anfangskonzentration des Sauerstoffs wurde in jeder Reihe neu bestimmt und stets etwas niedriger als $^n/_{250}$ gefunden; die Versuchslösung enthielt ziemlich genau 2,15 ccm O_2. Für den Sauerstoffverbrauch ergaben sich die nachstehend verzeichneten Werte in Kubikzentimeter $^n/_{25}$-Thiosulfat = $^n/_{25}$-O_2.

Tabelle 1.

Zeit (Min.)	I	II
0	9,6	9,6
5	6,2	6,0
7	5,2	5,1
10	3,1	3,3
15	2,2	2,4
30	0,2	0,3
45	0	0,1
60	0	0

Man sieht — und die Kurve I auf dem nachstehenden Schaubild (Fig. 3) macht es besonders deutlich —, daß bei-

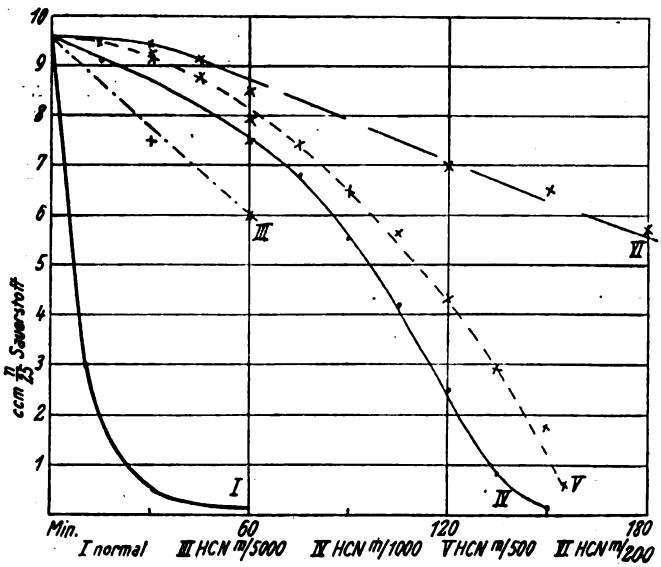


Fig. 3. Kinetik des O_2-Verbrauchs.

Digitized by Google

nahe $^3/_4$ des zur Verfügung stehenden Sauerstoffs mit gleichbleibender Geschwindigkeit verbraucht werden, daß aber unterhalb der O_2-Konzentration, wie sie die atmosphärische Luft aufweist, eine starke Verlangsamung der Reaktion sich einstellt, die wohl auf die verminderte Adsorptionsgeschwindigkeit des Gases, sicherlich aber auch zum Teil auf Bestimmungsfehler, die bei so geringen Konzentrationen nicht zu vermeiden sind, zurückzuführen ist. Die Beobachtung, daß die Reaktionsgeschwindigkeit unterhalb der O_2-Konzentration der Luft kleiner wird, hat auch Westerlund bei seinen Absorptionsversuchen mit stark verdünntem Sauerstoff gemacht.

Im direkten Zusammenhang mit den geschilderten Versuchen haben wir auch die *Kinetik der durch Blausäure gehemmten Reaktion* untersucht. Die Tatsache dieser Hemmung ist durch zahlreiche Arbeiten bekannt. Hier war ihre genauere quantitative Bestimmung erforderlich im Hinblick auf die bei Gegenwart von Methylenblau vor sich gehende Dehydrierung, von der später die Rede sein wird.

Die Messungen des Sauerstoffverbrauchs vollzogen sich genau wie beschrieben. Die zugehörige Menge $^n/_{10}$-Blausäure wurde erst nach Sättigung der Lösung mit Sauerstoff hinzugefügt, um einen Verlust daran durch Verflüchtigung zu vermeiden. Die einzelnen Ansätze waren genau wie oben zusammengesetzt und enthielten die nachstehenden HCN-Mengen.

	III	IV	V	VI
ccm Zusatz von $^n/_{10}$-HCN .	0,2	1	2	5
Konzentration der Blausäure	$^n/_{5000}$	$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{200}$
Anzahl der Reihen	1	2	2	1

Die gewonnenen Werte (Tab. 2) sind ohne weiteres mit denen der ungehemmten Versuche vergleichbar und daher auf dem gleichen Schaubild (Fig. 3) wie jene aufgetragen.

Schon die geringe Konzentration von $^n/_{5000}$ Blausäure bringt eine erhebliche Hemmung hervor, die sich mit erhöhtem Blausäure-Zusatz steigert. Man sieht aber aus dem Verlauf der Kurven mit aller Deutlichkeit, daß die Wirkung der Blausäure im Verlauf der Reaktion nicht stationär bleibt, sondern stark zurückgeht. Der unvollständige Ver-

Digitized by Google

Tabelle 2.

Sauerstoffgehalt in ccm $^n/_{25}$-Thiosulfat.

Zeit (Min.)	III	IV		V		VI
0	9,6	9,6	9,5	9,6	9,6	9,6
5	—	9,5	9,4	—	—	—
7	9,2	—	—	9,6	9,6	—
10	—	—	—	—	—	—
15	8,6	9,0	9,1	9,6	9,4	—
30	7,5	8,6	8,7	9,3	9,2	9,4
45	—	8,0	8,2	8,9	8,8	9,1
60	5,0	7,3	7,5	8,0	7,9	8,5
75		6,9	6,8	7,6	7,4	—
90		5,3	5,6	6,3	6,5	—
105		4,0	4,2	5,8	5,6	—
120		2,6	2,5	4,6	4,3	7,0
135		1,2	0,8	3,2	2,9	—
150		0,5	0,1	2,0	1,7	6,5
180		0,1	—	0,8	—	5,7

such III läßt dies zwar nicht erkennen, dagegen sehr klar IV mit $^n/_{1000}$-HCN und auch noch V ($^n/_{500}$). In VI ($^n/_{200}$) kommt diese Gegenwirkung während der Versuchszeit nicht mehr zum Ausdruck.

Vergleicht man den Sauerstoff-Umsatz in den einzelnen Versuchen zu gleichen Zeiten und zwar auf der Grundlage des ungehemmten Ansatzes in der Phase von dessen noch linearem Gang, so ergeben sich folgende Verhältnisse.

Es werden aufgenommen Kubikzentimeter $^n/_{25}$-O_2 in den ersten 25 Minuten von:

	I (bzw. II)	III	IV	V	VI
	7,3	1,0	0,5	0,1	0
daher Geschwindigkeit in %	100	14	7	1,4	—

Berücksichtigt man indessen die Periode der teilweisen Erholung in den HCN-haltigen Reihen und vergleicht die Zeiten, die zur Aufnahme von 3 ccm $^n/_{25}$-O_2 benötigt werden, so stellt sich die Hemmung als weit weniger kräftig dar.

3 ccm $^n/_{25}$-O_2 werden verbraucht:

	I	III	IV	V	VI
Min.	5	[38]	38	60	150
daher Geschwindigkeit in %	100	[13]	13	8,5	3,3

Digitized by Google

Der unvollständig durchgeführte Versuch III ist hier nicht maßgebend. Wenn man von ihm absieht, so kommt man zu dem Schluß, daß eine HCN-Konzentration von $^{n}/_{500}$—$^{n}/_{1000}$ die Geschwindigkeit der Dehydrierung von Bernsteinsäure der Größenordnung nach auf rund $^{1}/_{10}$ herabsetzt. Wir werden dieses Ergebnis bei Versuchen, in denen die O_2-Aufnahme manometrisch gemessen wird, bestätigt finden.

Die Kinetik der Dehydrierung durch Methylenblau.

Gegen die Auffassung, daß die Dehydrierung von Bernsteinsäure, sei es durch molekularen Sauerstoff, sei es durch Methylenblau durch ein und dasselbe Enzym beschleunigt werde, ist von verschiedenen Seiten der Einwand erhoben worden, daß mit ihr der total verschiedene Materialumsatz nicht zu vereinbaren sei. So finden Bach und Michlin[1]) bei vergleichenden Versuchen am Muskelgewebe von Tauben einen 300 mal größeren Sauerstoffverbrauch, als der Menge während derselben Zeit hydrierten Farbstoffs entspricht. Schon F. G. Fischer hat festgestellt, daß durch das entstehende Leukomethylenblau die Entfärbungsreaktion stark gehemmt wird und es ist schon aus diesem Grunde nicht angängig, auf Grund von Entfärbungsversuchen jenen Vergleich anzustellen.

Ein klarerer Einblick in die Reaktionsverhältnisse ließ sich aus dem Studium der Kinetik des Umsatzes erwarten. Man lehnte sich dabei eng an die Bedingungen der Umsatzmessungen beim Sauerstoff an und prüfte in parallelen Reihen den Verbrauch des Farbstoffs, der zu Anfang in derselben Konzentration wie der Sauerstoff, nämlich nicht ganz $^{1}/_{250}$-normal eingesetzt war.

Die früher benutzten Pulverflaschen wurden mit der ausgekochten Succinatlösung und der üblichen Gewebemenge (10 g) beschickt. Das benutzte Methylenblau (medic. Merck) verlor im Vakuum bei 80° 5 Mol Wasser, somit wurden jedem Versuch 79 mg MB in vorher mit reinstem Stickstoff durchspülter, auf 37° erwärmter Lösung zugegeben. Schon vor Zugabe der Farbstofflösung wurde durch die 37° warme

[1]) B. 60, 827 (1927).

Digitized by Google

Flüssigkeit Stickstoff geleitet. Die verschlossenen Gefäße wurden dann alsbald in den Thermostaten gebracht und darin bis zur Entnahme geschüttelt. Das noch vorhandene MB wurde unter reinstem Stickstoff mit $^n/_{25}$-$TiCl_3$-Lösung, deren Gehalt vor jedem Versuch neu bestimmt wurde, aus einer Mikrobürette titriert. Um Platz zu schaffen, wurden vor der Titration 20 ccm der Lösung herauspipettiert, die bei den unten angegebenen Werten in Rechnung gesetzt sind. Der Umstand, daß ein großer Teil des Farbstoffs auf dem Gewebe adsorbiert ist, bereitete keinerlei Schwierigkeiten; er wurde von dem Reduktionsmittel schnell und glatt abgezogen.

Das Gewebematerial war von derselben Bereitung, wie das für die O_2-Versuche benützte und da die Messungen unmittelbar an jene angeschlossen sind, auch von derselben Wirkungsstärke. Die Titrationswerte von 2 Reihen in Kubikzentimeter $^n/_{25}$-MB sind nachstehend aufgeführt.

Tabelle 3.

Zeit (Min.)	I	II	ccm $^n/_{25}$-O_2
0	9,6	9,6	9,6
10	7,0	6,9	3,2
15	5,0	5,2	2,3
20	3,0	3,7	—
30	1,5	1,1	0,2
45	1,0	0,7	
60	0,5	0,2	
75	0,2	0	

In die Tabelle sind zum Vergleich die früheren Werte des Sauerstoffverbrauchs mit aufgenommen. Es ergibt sich, unter Berücksichtigung der kurvenmäßigen Wiedergabe (Fig. 4, S. 12), daß die Dehydrierung von Bernsteinsäure am Muskelgewebe durch MB ebenso wie die durch Sauerstoff grundsätzlich linearen Verlauf nimmt. Erst bei stark verminderter Konzentration des Wasserstoffacceptors biegt die Kurve, ebenso wie dort, scharf ab. Es sei daran erinnert, daß beim Studium der Dehydrase der Essigbakterien ganz analoge Feststellungen gemacht wurden, wobei freilich bei der MB-Reaktion in jener Abhandlung ausführlich diskutierte Störungen beobachtet worden sind.

Die Reaktionsgeschwindigkeit der Dehydrierung mit MB erreicht 45—50 Proc. derjenigen bei der natürlichen

Digitized by Google

Reaktion mit Sauerstoff, ist als nahezu 150 mal größer als nach der Annahme der zitierten russischen Autoren. Damit sind die beiden angewandten Wasserstoffacceptoren auch im Hinblick auf die kinetischen Verhältnisse einander sehr nahe gebracht.

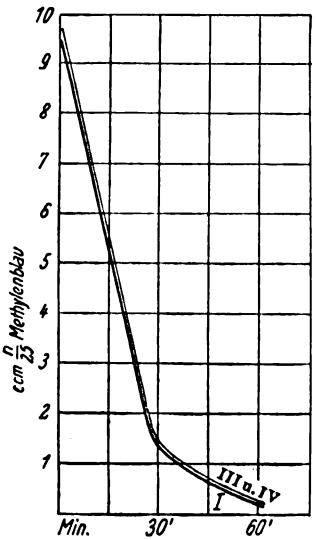


Fig. 4. Kinetik der MB-Reaktion.

Der Verlauf der MB-Entfärbung läßt in unseren Versuchen eine Hemmung durch die entstandene Leukoverbindung nicht oder doch kaum erkennen. Für den plötzlichen Knick der Kurve möchten wir — bei den schon sehr kleinen Farbstoff-Konzentrationen — eher analytische Ungenauigkeiten verantwortlich machen, die sich zu dem Einfluß der in jenem Zeitpunkt wohl bereits verminderten Geschwindigkeit addieren. Man hat zu berücksichtigen, daß in den kinetischen Versuchen, mit O_2 wie mit MB, das Verhältnis: Enzymmenge + Succinat zu Wasserstoffacceptor, ein besonders großes ist, rund das 20fache wie in den zu Anfang und auch noch später angeführten Versuchen, bei im übrigen gleicher absoluter Konzentration. Dadurch wird erreicht, daß während der Reaktion die Belegung der aktiven Enzym-Oberfläche durch das Hydrierungsprodukt nicht meßbar zum Ausdruck kommt. Wir möchten hervorheben, daß diese Verhältnisse in mehreren Arbeiten der letzten Jahre, in denen die Dehydrierung durch O_2 mit der durch MB verglichen wird, unbeachtet geblieben sind und daß man aus diesem Grunde irrtümliche Schlüsse gezogen hat.

Ebenso wie bei den Versuchen mit Sauerstoff haben wir auch bei denen mit MB den Verlauf der Reaktion *bei Gegenwart von Blausäure kinetisch* untersucht. Ihre hohe

Digitized by Google

Indifferenz gegenüber diesem starken Hemmungsmittel der O_2-Dehydrierung ist durch zahlreiche Beobachtungen anderer Autoren und durch eigene bekannt.

Je 2 Reihen gleicher Art wie oben, davon III 5, IV 10 ccm $^n/_{10}$-HCN enthaltend, wurden in der beschriebenen Weise messend untersucht.

Tabelle 4.

Zeit (Min.)	III ($^n/_{200}$-HCN)		IV ($^n/_{100}$-HCN)	
0	9,6	9,6	9,6	9,6
10	7,1	7,2	7,0	7,2
15	5,3	5,5	5,1	5,5
20	4,3	4,3	4,1	4,3
30	1,1	1,3	1,6	1,5
45	0,9	0,7	0,9	0,8
60	0,4	0,1	0,3	0,2
75	0,1	0	0,1	0

Eine Hemmung ist selbst bei der hohen Konzentration von $^n/_{100}$-HCN, durch die die O_2-Reaktion fast vollkommen zum Erliegen gebracht wird, nicht zu erkennen. Die Kurve der beiden Reihen fällt mit derjenigen des HCN-freien Versuches (Fig. 4) zusammen. Das Resultat entspricht grundsätzlich den an den Essigbakterien festgestellten. Dort liegt die Kurve des Ansatzes mit $^n/_{200}$-HCN ebenfalls auf der des reinen MB-Versuches, während durch $^n/_{100}$-HCN eine geringfügige Hemmung eintritt.

Diese Indifferenz der MB-Reaktion gegen Blausäure bestätigen wir noch durch einen Entfärbungsversuch, der nach der Thunbergschen Methode mit der Variante von Bertho[1]) vorgenommen wurde.

Je 3 Röhren, überall 0,3 g Enzympräparat und 0,6 mg MB, je 4 ccm $^m/_{10}$-gepufferte Succinatlösung, Gesamtvolumen überall 10 ccm. Die Blausäure war 45 Minuten lang mit dem Gewebe in Berührung, ehe die anderen Stoffe zugefügt wurden.

	I	II	III
Konzentration an HCN	0	$^n/_{200}$	$^n/_{100}$
Entfärbung war eingetreten	I	II	III
nach Min.	37, 39, 38	38, 38, 38	38, 38, 38

[1]) A. 474, 8 (1929).

Digitized by Google

Die manometrische Messung des Sauerstoff-Verbrauchs.

Um den Grad der durch Blausäure bewirkten Hemmung noch genauer kennen zu lernen, wurde ihr Einfluß noch in mehreren Reihen bei praktisch gleichbleibender Sauerstoff-Konzentration bestimmt. Die verwendeten Schüttelgefäße nach Warburg enthielten einen so großen Gasraum (20—25 ccm), daß der jeweilige Maximalverbrauch von 2,2 ccm Sauerstoff dessen Konzentration praktisch intakt ließ.

Die Beschickung bestand aus 0,5 g Muskelbrei und 5 ccm einer Lösung, die $^{m}/_{15}$ auf $p_H = 7{,}4$ gepuffert und an Natriumsuccinat meist $^{m}/_{25}$ war. Es erübrigte sich, die inneren Tröge der Schüttelgefäße mit Lauge zu versehen, da auf Grund von Kontrollversuchen bei den Reaktionen kaum meßbare Mengen von CO_2 auftreten.

Es werden von zahlreichen unter sich übereinstimmenden Messungen 2 Reihen A und B wiedergegeben. In A wird die O_2-Aufnahme in reinem Sauerstoff und in Luft parallel gemessen, in beiden Medien in derselben Reihe die Hemmung durch Blausäure.

Das Präparat für A war 4 Tage, das für B 3 Tage alt. Die Succinatkonzentration in Reihe B, die unter Luft ging, war $^{n}/_{50}$. $T = 37{,}0°$.

Reihe A. I—III in O_2	I	II	III
		I'—III' in Luft.	
HCN-Konzentration	0	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{200}$

Reihe B.	I	II	III	IV
HCN-Konzentration	0	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{500}$	$^{n}/_{200}$

Zur vollständigen Dehydrierung der eingesetzten Bernsteinsäure werden für A 2240, für B 1120 cmm O_2 beansprucht.

Wir wollen zuerst darauf aufmerksam machen (vgl. Tab. 5), daß einmal die Reaktion unter reinem Sauerstoff (I) merklich rascher verläuft als unter Luft (I') und daß zweitens auch die Verminderung der Succinatkonzentration mit einer deutlichen Verlangsamung verbunden ist (A I' und B I) und daß die Hemmung durch HCN die Ansätze unter O_2 und unter Luft in gleicher Weise trifft.

Ferner finden wir unsere Beobachtung aus den kinetischen Versuchen bestätigt, daß der Prozeß nach einer gewissen Periode maximaler Hemmung sich von der Wir-

Digitized by Google

Tabelle 5.

Zeit (Min.)	Reihe A						Reihe B			
	I	I′	II	II′	III	III′	I	II	III	IV
15	770	550	38	42	22	24	435	30	36	30
30	1550	1100	100	83	58	60	860	60	66	50
45	1860	1450	145	130	83	90	1050	83	90	70
60	1980	1810	200	180	115	120	1110	108	110	90
90	—	—	—	—	—	—	1140	165	154	110
120	2210	2210	420	390	215	215		235	202	150
150								330	264	200
180								475	375	230
240								840	630	290
300								1100	970	370
360								1100	1130	470

kung der Blausäure in beträchtlichem Ausmaße befreit. Das geht aus dem Verlauf der Kurven auf Fig. 5 sehr klar

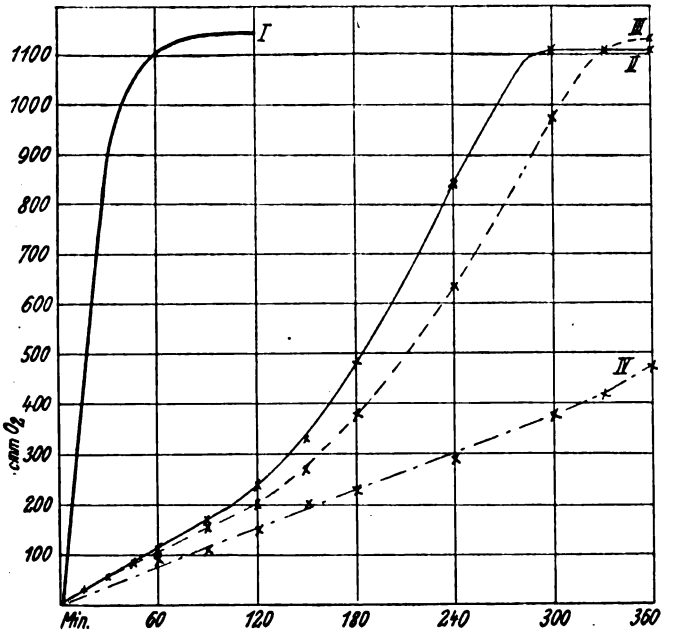


Fig. 5. O_2-Aufnahme. Reihe B $^{m}/_{50}$-Succinat.

Digitized by Google

hervor. Setzen wir die Werte wie oben in Beziehung zur reinen Dehydrierung, so findet man folgende Grade der Hemmung

	A			B			
	I	II	III	I	II	III	IV
cmm O_2 von 0—15′	770	38	22	435	30	36	30
Geschwindigkeit in %	100	5	3	100	7	8	7

Vergleicht man aber die Umsätze zwischen der zweiten und dritten Stunde in Reihe B, so zeigt sich ein weit geringerer Hemmungsgrad.[1])

	I	II	III	IV
cmm O_2 in 1 Stunde	1740	240	173	80
in %	100	14	10	5
	(100)	(13)	(8,5)	(3,3)

Wie ein Vergleich mit den eingeklammerten Zahlen, die von der analogen Gegenüberstellung aus den kinetischen Versuchen von S. 9 hierher übernommen sind, zeigt, herrscht befriedigende Übereinstimmung mit jener Reihe. Der Grad und die zeitliche Änderung der HCN-Hemmung sind also bei Sauerstoffkonzentrationen zwischen ~ 150—750 mm Druck innerhalb der Genauigkeitsgrenze der Methode gleich.

Das trockene Enzympräparat.

Bringt man den Muskelbrei in einem guten Vakuum-Exsiccator über konz. Schwefelsäure und Ätznatron rasch bei Raumtemperatur zur Trockne, so erhält man ein nahezu farbloses Pulver, das sich im Achatmörser sehr fein zerreiben läßt. Aus 0,5 g gewinnt man auf diese Weise 0,085 g Trockenpräparat. In ihm ist die Aktivität nicht nur erhalten, sondern auf beinahe das Doppelte gesteigert, was wohl damit zusammenhängt, daß durch die mechanische Zerstörung der Zellstruktur und die dadurch bedingte feinere Verteilung ein größerer Anteil wirksamer Enzym-Oberfläche freigelegt wird, als in dem feuchten Material. Wir haben das Trockenpräparat noch nicht zu weiteren Versuchen benutzt und wollen hier nur zeigen, daß es sich gegenüber der Hemmung durch Blausäure analog verhält wie der Muskelbrei.

[1]) Für I ist die Durchschnittsgeschwindigkeit angegeben.

Digitized by Google

4 Ansätze: I 0,5 g Muskelbrei, I′ dasselbe Material getrocknet (85 mg), II und II′ wie I und I′, aber an Blausäure $^{n}/_{200}$. Überall $^{m}/_{25}$-Succinat, $p_H = 7{,}4$. $T = 37{,}0°$.

Tabelle 6.

Zeit (Min.)	I′	I	II′	II
15	395	210	28	12
30	810	470	50	30
45	1120	685	72	42
60	1390	910	94	55
90	1800	1310	135	75
120	2000	1620	180	100

Die Kombination von Sauerstoff und Methylenblau.

Unterwirft man unter den bisher benutzten Bedingungen Succinat der Dehydrierung durch Muskelgewebe bei gleichzeitiger Gegenwart von Sauerstoff und Methylenblau, so findet man ziemlich genau denselben Sauerstoffverbrauch, wie wenn kein Farbstoff zugegen ist. Und zwar ergibt sich dasselbe Bild bei einer Änderung der MB-Konzentration zwischen $^{n}/_{250}$ und $^{n}/_{5000}$.

Die Gefäße waren wie üblich mit 0,5 g Muskelbrei und 5 ccm auf $p_H = 7{,}4$ gepufferter Natriumsuccinatlösung beschickt. Die einzelnen Ansätze enthielten den Farbstoff in folgender Abstufung:

I	II	III	IV	V
0	$^{n}/_{250}$	$^{n}/_{500}$	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{5000}$

Tabelle 7.

Zeit (Min.)	I	II	III	IV	V
15	240	260	250	240	220
30	480	510	465	480	440
45	700	740	665	680	640
60	910	935	850	870	850
90	1280	1320	1180	1200	1210
120	1600	1680	1500	1480	1510

Wie Wieland und Bertho in der mehrfach erwähnten Untersuchung ausgesprochen haben, muß man annehmen, daß bei gleichzeitiger Gegenwart von MB dem molekularen Sauerstoff der Zutritt zu der aktiven Enzym-Oberfläche ver-

Digitized by Google

sperrt ist. Versuche mit Chinon und Sauerstoff haben dieser Auffassung die experimentelle Grundlage gegeben. Diese „Hemmung" der Dehydrierung mit Sauerstoff durch MB wird wohl schon bei der Konzentration von V ($^n/_{5000}$) zum Ausdruck kommen, da wir dem Farbstoff ein weit stärkeres Hemmungsvermögen zuschreiben als der Blausäure, die bei $^n/_{1000}$, wie gezeigt, schon kräftig hemmt.

Wenn diese Annahme zutrifft, dann muß hier die Geschwindigkeit der MB-Hydrierung für den Gesamtvorgang bestimmend sein, wobei wir die wohl zutreffende Annahme machen, daß die Reoxydation des Farbstoffs (in schwach alkalischer Lösung!) wesentlich rascher verläuft als die Grundreaktion. Die festgestellten Ergebnisse lassen sich aber so nicht erklären, da wir ja wissen, daß die Dehydrierung von Succinat durch MB nur ungefähr mit der halben Geschwindigkeit vor sich geht, wie die mit Sauerstoff. Die O_2-Werte von II—V dürften demgemäß, wenigstens während der ersten Hälfte des Umsatzes, nur den halben Betrag derjenigen von I erreichen.

Wir glauben, daß wir auch hier die Erklärung verwerten können, die wir im Falle der Essigbakterien bei der analogen Erscheinung[1]) entwickelt haben. Darnach wäre in dem Enzymmaterial ein Teil der aktiven Oberfläche aus Gründen des geringeren Diffusionsvermögens dem Farbstoff nicht zugänglich, während der Sauerstoff (wie auch das Substrat) an sie gelangen kann. Diese durch die Struktur des Gewebes bedingte Ungleichheit läßt den Sauerstoff auch teilweise direkt zur Wirkung kommen, derart, daß dieser direkte Verbrauch zusammen mit dem für die Reoxydation der Leukoverbindung benötigten die erhöhten Zahlenwerte der MB-Ansätze zur Deutung bringt. Ihre ziemlich gute Übereinstimmung mit dem MB-freien Versuch würde aussagen, daß bei gleicher Zugänglichkeit der aktiven Enzymoberfläche beide Wasserstoffacceptoren mit gleicher Geschwindigkeit reagieren würden.

[1]) A. 467, 129 (1928). Hier beträgt die Reaktionsgeschwindigkeit mit MB nur etwa $^1/_{12}$ von der mit Sauerstoff. Wechselnde Mengen zugesetzten Farbstoffs ändern die O_2-Aufnahme auch nicht.

Digitized by Google

Diese Verhältnisse erfahren eine weitere Beleuchtung, wenn man das behandelte System bei Gegenwart von Blausäure prüft. Da Blausäure in den Konzentrationen, die wir anwenden, auf die Dehydrierung durch Methylenblau ohne Einfluß ist, da ferner die Reoxydation der Leukoverbindung nicht blausäureempfindlich ist, so sollte an sich in dem kombinierten System mit und ohne HCN die gleiche Sauerstoffaufnahme erwartet werden. Dies ist aber, wie folgende Versuchsreihe zeigt, durchaus nicht der Fall.

Es wurde in 8 Ansätzen der üblichen Zusammensetzung gleichzeitig die Sauerstoffaufnahme gemessen. $T = 37{,}0°$. Die MB-Konzentration war in weiter Variation abgestuft, nämlich:

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
MB	$^n/_{1250}$	$^n/_{1250}$	$^n/_{7500}$	$^n/_{12\,500}$	$^n/_{25\,000}$	$^n/_{125\,000}$	$^n/_{750\,000}$	0
HCN	0	$^n/_{200}$	$^n/_{200}$	$^n/_{200}$	$^n/_{200}$	$^n/_{200}$	$^n/_{200}$	$^n/_{200}$

Die MB-Konzentration von I und II entspricht der des Sauerstoffs in der Luft.

Tabelle 8.

Zeit (Min.)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
30	625	170	66	24	18	22	14	12
60	1325	355	132	63	64	57	35	25
90	1800	520	188	104	98	92	58	40
120	2100	640	230	130	124	118	70	48
150	2240	760	280	162	156	144	89	58
180	2260	870	320	200	184	170	104	71
210	—	960	375	230	215	198	120	79
240	—	1030	415	260	235	225	140	94
270	—	1110	465	295	275	250	150	110

Zuerst interessiert hier der Vergleich der beiden Ansätze von derselben MB-Konzentration ohne und mit $^n/_{200}$-HCN, I und II. Der hemmende Zusatz läßt die Geschwindigkeit der O_2-Aufnahme auf etwas weniger als 30 Proc. herabsinken. Das bedeutet, daß in II Reaktionsorte unwirksam gemacht werden, die in I frei von MB sind. Wir betrachten dieses Ergebnis als Beweis für die oben entwickelte Vorstellung, daß dem Sauerstoff bei Gegenwart des Farbstoffs noch Bestandteile der wirksamen Oberfläche

Digitized by Google

zugänglich sind, zu denen der Farbstoff aus den angeführten Gründen nicht vorzudringen vermag (Ansatz I). Die Blausäure macht sie für den Sauerstoff unwirksam und infolgedessen beschränkt sich der Umsatz in dem HCN-haltigen Versuche auf die Menge Sauerstoff, die für die Reoxydation der Leukoverbindung verbraucht wird. Wir haben oben die Geschwindigkeit der Dehydrierung durch MB als nicht ganz halb so groß wie die durch Sauerstoff bestimmt. Dabei war die Farbstoff-Konzentration 5 mal größer als hier. Bei den vorliegenden Versuchen befinden wir uns bereits in einem Konzentrationsgebiet, wo die Umsatzkurve aus ihrem linearen Verlauf heraustritt. Es ist also zu erwarten, daß das Umsatzverhältnis bei den jetzigen Bedingungen kleiner sein wird. Da zudem nicht mit völliger Sicherheit

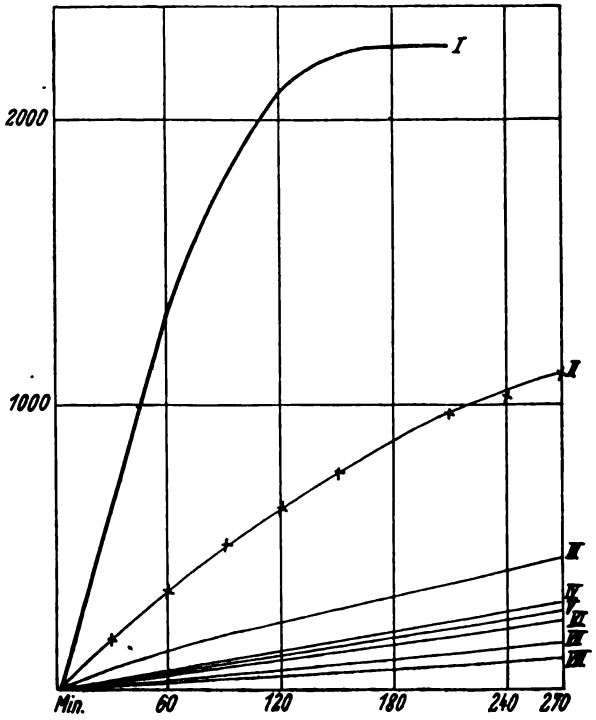


Fig. 6. O_2-Aufnahmen bei $^n/_{200}$-Blausäure und wechselnder MB-Kons.

Digitized by Google

feststeht, daß die Geschwindigkeit der Reoxydation die dauernde Aufrechterhaltung der MB-Konzentration gewährleistet, so wird man die gegenüber dem früheren Grundversuche verminderte Geschwindigkeit der Dehydrierung durch MB verständlich finden.

Wie stark übrigens durch die Konzentration des Farbstoffs die Geschwindigkeit des Umsatzes bei Gegenwart von HCN beeinflußt wird, sieht man auf dem Kurvenbild (Fig. 6), auf dem die Zahlenwerte der Versuche I—VIII dargestellt sind. Aber noch die verdünnteste Farbstofflösung von $^{n}/_{750000}$ (VII) läßt einen meßbaren Ausschlag gegenüber dem MB-freien Ansatz VIII erkennen.

Wir stützen die Ergebnisse dieser Versuchsreihe durch zwei weitere, in denen die MB-Konzentration gleich gehalten ist ($^{n}/_{1250}$), diejenige der Blausäure jedoch variiert.

Die Reihe A (I—IV) geht unter Sauerstoff, B (I′—IV′) unter Luft. Alle Lösungen sind an MB $^{1}/_{1250}$-normal, $T = 37{,}0°$.

	I	II	III	IV	I′	II′	III′	IV′
HCN-Konz.	0	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{500}$	$^{n}/_{200}$	0	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{500}$	$^{n}/_{200}$

Tabelle 9.

t (Min.)	I	II	III	IV	I′	II′	III′	IV′
15	930	150	160	140	525	150	136	118
30	1530	315	320	300	1030	295	285	225
45	1850	510	515	505	1360	380	370	305
60	1980	640	665	630	1680	490	460	405
90	2070	920	890	800	2030	695	670	585
120	2100	1150	1090	960	2140	870	830	700

Die Sauerstoffaufnahme ist, wie zu erwarten, in II, III, IV und II′, III′, IV′ von der HCN-Konzentration wenigstens für die Anfangszeiten unabhängig, im Einklang mit der Tatsache, daß dies auch für die Dehydrierung durch MB gilt. Daß im späteren Verlauf die Ansätze, die ärmer an Blausäure sind, etwas mehr Sauerstoff aufnehmen, hängt damit zusammen, daß hier die oben behandelte Lockerung der Hemmung in Erscheinung tritt, daß also in geringem Maße ein direkter Sauerstoffverbrauch stattfindet.

Digitized by Google

Eine weitere Reihe mit $^{m}/_{50}$-Succinatlösung unter Luft sei im Kurvenbild (Fig. 7) wiedergegeben. Die geringe Abstufung in den O_2-Aufnahmen, die durch die in den HCN-

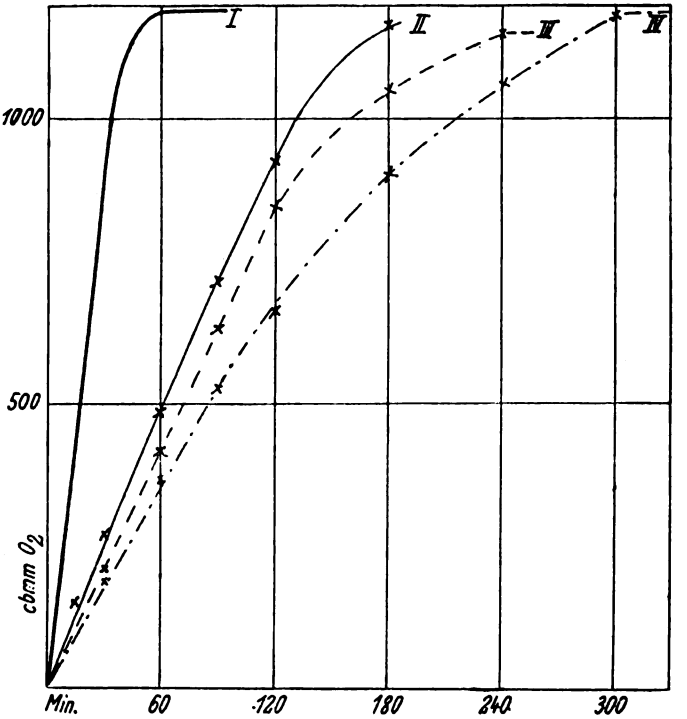


Fig. 7. O_2-Aufnahme bei $^{n}/_{1250}$-MB und wechselnder HCN-Konz.
I ohne HCN II $^{n}/_{1000}$-HCN III $^{n}/_{500}$-HCN IV $^{n}/_{200}$-HCN.

ärmeren Ansätzen noch vorhandene O_2-Dehydrierung veranlaßt ist, kommt deutlich zum Ausdruck. MB = $^{n}/_{1250}$. $T = 37^{0}$.

	I	II	III	IV
HCN	0	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{500}$	$^{n}/_{200}$

A. v. Szent-Györgyi[1]) findet in *einem* Versuch, der sich am ehesten mit II vergleichen läßt — er benutzt die vierfache Muskelmenge, 6 fache Konzentration an HCN, $2^{1}/_{2}$ fache

[1]) Bio. Z. 150, 199 (1924).

Digitized by Google

an MB — die gleiche O_2-Aufnahme, wie im reinen Ansatz mit Sauerstoff. Dagegen wird nach Meyerhof[1]) an nicht gewaschener Froschmuskulatur die durch HCN gehemmte O_2-Aufnahme mit MB kaum erhöht. In diesem Fall ist allerdings das Fermentsystem weniger übersichtlich als im Fall der Bernsteinsäure-Dehydrase.

Zur Frage der Adsorption.

Farbstoffe der Triphenylmethanreihe können nicht als Wasserstoffacceptoren für die hier behandelte Dehydrierungsreaktion dienen. So wird Krystallviolett nicht im geringsten Maße entfärbt. Da hinsichtlich der färberischen Eigenschaften zwischen MB und dem genannten Farbstoff kein grundsätzlicher Unterschied besteht, so schien in einem an der Reaktion nicht beteiligten Farbstoff dieser Art ein geeignetes Material vorzuliegen, das Problem der adsorptiven Verdrängung zu prüfen. Man konnte erwarten, daß Krystallviolett, das von dem Muskelgewebe in äußerlich gleichem Grade adsorbiert wird wie Methylenblau, als starkes Hemmungsmittel der Dehydrierung durch Sauerstoff sich erweisen werde. Die Versuche haben ergeben, daß dies nicht der Fall ist.

Die Sauerstoffaufnahme bei der enzymatischen Bernsteinsäure-Dehydrierung erfährt in Gegenwart von $^n/_{1250}$-Krystallviolett nicht die geringste Hemmung.

Die Ansätze sind die üblichen. Wir haben gleichzeitig auch noch geprüft, ob die durch Blausäure gehemmte Reaktion durch den Farbstoff irgendwie beeinflußt wird.

	I	I′	II	II′	III	III′
Krystallviolett	—	$^n/_{2500}$	—	$^n/_{2500}$	—	$^n/_{2500}$
HCN . . .	—	—	$^n/_{1000}$	$^n/_{1000}$	$^n/_{500}$	$^n/_{500}$.

Alle Versuche sind doppelt ausgeführt.

Obwohl Krystallviolett auf das Gewebe aufzieht, bleibt es ohne Wirkung auf die enzymatische Wirkung. Es fehlt dem Farbstoff offenbar jede Affinität zur aktiven Oberfläche. Die Verstärkung der HCN-Hemmung durch Krystallviolett, die man aus dem Vergleich von II mit II′ und von III

[1]) Pflügers Arch. 175, 32 (1919).

Digitized by Google

Tabelle 10.

Zeit (Min.)	I		I′		II		II′		III		III′	
30	1150	1100	1180	1130	58	45	48	45	22	20	21	20
45	1650	1590	1620	1570	81	75	65	70	39	40	26	28
60	1950	1870	1900	1850	112	105	80	85	57	60	38	40
75	2100	2020	2080	2030	152	145	95	100	80	80	48	50
90	2200	2120	2180	2150	200	190	105	110	95	105	52	58

mit III′ herauslesen kann, liegt außerhalb der Versuchsfehler. Wir können über ihre Ursache nichts aussagen. Vielleicht steht sie im Zusammenhang mit einer Beobachtung, die wir beim Studium der Adsorption von Methylenblau an Muskelgewebe gemacht haben. Wir fanden, daß in Gegenwart von Blausäure mehr Farbstoff aufgenommen wird, als aus der reinen Farbstofflösung. Diese Erscheinung gibt Anlaß zu weiteren Experimenten.

Chinon als Wasserstoffacceptor.

Bei der Dehydrierung von Alkohol und Aldehyd durch Essigsäurebakterien hat sich Chinon als Wasserstoffacceptor erwiesen, der den molekularen Sauerstoff an Leistungsfähigkeit übertraf und das MB weit in den Schatten stellte. Zu unserer Überraschung finden wir bei der Succino-Dehydrase durchaus andersartige Verhältnisse. Chinon ist hier vollkommen ungeeignet.

Bringt man eine wäßrige Chinonlösung mit einer solchen von Succinat in Gegenwart von Muskelbrei und unter Ausschluß von Luft zusammen, so kann man auch nach längerer Zeit keine Reduktion feststellen, obwohl die Konzentration des Chinons in der Lösung sich stark vermindert. Aber auch, wenn nur $^1/_{10}$ der dem Succinat äquivalenten Menge zur Anwendung kommt, kann man nach vielen Stunden noch unverändertes Chinon nachweisen.

Daß das Chinon vom Gewebe adsorbiert wird, erkennt man daran, daß es nicht gelingt, eine verdünnte Lösung, die für sich allein mit Muskelbrei kurze Zeit in Berührung war, in der üblichen Weise jodometrisch zu titrieren; man

Digitized by Google

findet viel zu wenig. Da Methylenblau auch kräftig vom Gewebe adsorbiert, trotzdem aber, wie früher gezeigt wurde, bei der analytischen Reduktion vollständig wieder herausgeholt wird, so liegt die Vermutung nahe, daß mit der Adsorption des Chinons eine chemische Veränderung verbunden ist, die wohl in seiner Fähigkeit, zu gerben zu suchen ist.

Es sei bemerkt, daß bei den Versuchen mit Chinon die Acidität ein wenig auf die saure Seite des Neutralpunktes ($p_H = 6{,}8$) eingestellt wurde, unter Berücksichtigung der Empfindlichkeit der Substanz auch gegenüber niederer OH'-Konzentration.

Chinon ermangelt nun nicht nur der Fähigkeit, bei der Bernsteinsäure-Dehydrierung als Wasserstoffacceptor zu dienen — ein besonders klares Beispiel der Spezifität dieser Funktion —, sondern es hemmt auch in hohem Maße die Reaktion mit Sauerstoff und ist in dieser Hinsicht der Blausäure an die Seite zu stellen.

Wir wollen diese Beobachtung durch das Beispiel einer Versuchsreihe belegen, in der die üblichen Ansätze mit 0,5 g Muskelbrei und 5 ccm, auf $p_H = 6{,}8$ gepufferter $^m/_{25}$-Natrium-succinatlösung in Barcroft-Warburgschen Schüttelgefäßen unter Sauerstoff zur Anwendung kamen. Der Chinongehalt ist in folgender Weise abgestuft:

	I	II	III	IV	V
Chinon-Konz.	0	$^m/_{50}$	$^m/_{100}$	$^m/_{250}$	$^m/_{1000}$

Tabelle 11.

Zeit (Min.)	I		II		III	IV		V
15	205	290	21	28	62	42	23	162
30	500	580	37	46	102	75	48	312
45	840	915	55	58	140	110	77	475
60	1120	1200	65	66	150	134	105	610
90	1650	1710	80	79	176	174	150	870
120	2020	2100	100	98	205	220	200	1070
150	2230	2240	106	108	215	240	233	1200
180	—	2300	123	120	230	265	265	1360
210	—	—	131	130	242	285	293	1480
225	—	—	138	137	250	300	305	1530
240	—	—	138	144	250	305	318	1560

Digitized by Google

Die Werte der zweiten Reihen von I, II und IV stammen von einer etwas späteren Bestimmung. Sie waren mit dem gleichen Material (I) und zu gleicher Zeit wie diejenigen von Tab. 12 ausgeführt.

Die Hemmung macht sich zu Anfang der Reaktion nicht so stark bemerkbar wie im Falle der Blausäure. Sie erreicht innerhalb der ersten 2 Stunden nur $^1/_3$—$^1/_4$ von deren Hemmungsgrad; immerhin ist sie auch in $^m/_{1000}$-Chinonlösung noch sehr deutlich. Während aber im Verlauf der Reaktion die Wirkung der Blausäure sich abmindert, wie auf S. 8 u. 9 ausgeführt ist, verstärkt sich die des Chinons außerordentlich stark, derart, daß z. B. bei der Konzentration von $^m/_{200}$ (III) der Prozeß nach 4 Stunden

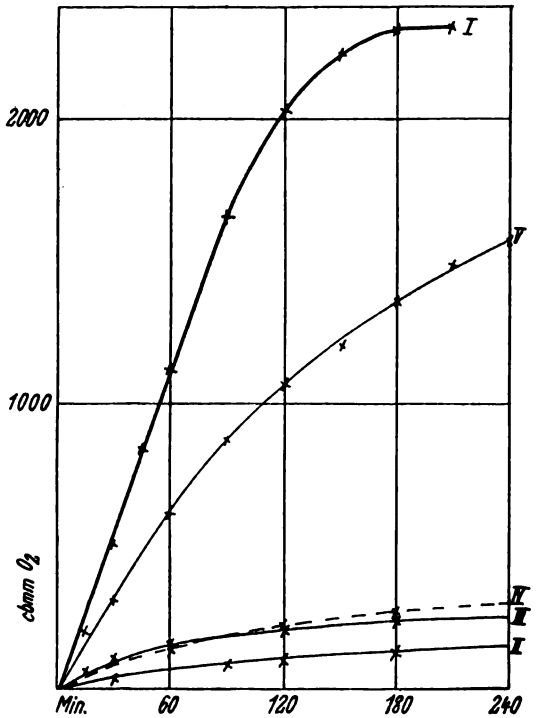


Fig. 8. Hemmung durch Chinon.

und nach einem Umsatz von nur 10 Proc. des Succinats praktisch zum Stillstand kommt. Diese Verstärkung des

Digitized by Google

Hemmungseffekts beim Chinon ist wohl so zu erklären, daß es zu Anfang wahllos und nicht sofort in chemischer Bindung vom Gewebe aufgenommen, nach und nach auf die aktiven Enzymoberflächen verteilt wird, von denen es, im Gegensatz zur Blausäure, sich nicht mehr ablösen kann. Der Unterschied in der zeitlichen Wirkungsweise der beiden Antikatalysatoren wird besonders deutlich, wenn man die Kurvenbilder (Figg. 8 und 5) miteinander vergleicht und die Divergenz der Kurven beachtet.

Hydrochinon als Wasserstoffdonator.

Beim Studium der Alkohol- und Aldehyd-Dehydrierung durch die Essigbakterien hat sich das Chinon namentlich auch deshalb so gut bewährt, weil sein Hydrierungsprodukt, das Hydrochinon, sich in adsorptiver und chemischer Hinsicht vollkommen störungslos verhält. Auch hierin treffen wir bei der Succino-Dehydrase andere Verhältnisse. Hydrochinon wird nämlich durch dieses Enzym bei Gegenwart von Sauerstoff dehydriert, wenn auch mit geringerer Geschwindigkeit als Bernsteinsäure. Das Essigferment vermag diese Reaktion auch nicht im kleinsten Maße zu beschleunigen.

Die Versuche, in denen die Dehydrierung von Hydrochinon durch Muskelgewebe gemessen wird, haben die fast immer benutzte Zusammensetzung. Zuerst wurde die Dehydrierung des kombinierten Systems Succinat–Hydrochinon bestimmt.

0,5 g Muskelbrei, 5 ccm $^m/_{25}$-Natrium-succinatlösung. $p_H = 6{,}8$, $T = 37°$. Reihe A und B mit verschiedenem Enzympräparat.

	A				B	
	I	II	III	IV	V	VI
Hydrochinon-Konz.	0	$^m/_{50}$	$^m/_{250}$	$^m/_{500}$	0	$^m/_{25}$

In den Anfangszeiten der Messung (vgl. Tab. 12) erfährt der O_2-Verbrauch in II, III und VI eine nicht bedeutende Verminderung gegenüber I bzw. V. Die Affinität des Succinats zur aktiven Oberfläche scheint erheblich größer zu sein als die von Hydrochinon. Jedoch steigert sich die Hemmung mit fortschreitendem Umsatz, gerade so wie bei Chinon-Zusatz.

Digitized by Google

Tabelle 12.

Zeit (Min.)	I	II	III	IV	V	VI
15	290	240	200	450	196	142
30	580	465	415	950	450	275
45	915	670	635	1390	690	340
60	1200	780	820	1710	960	415
90	1710	900	1160	2450	1380	545
120	2100	1020	1440	2460	1730	620
150	2240	1100	1640	2460	1850	670
180	2300	1160	1740	—	1950	705
210	2320	1200	1780	—	2000	735
240	2320	1240	1810	—	—	—

Daraus kann man schließen, daß Chinon entsteht, daß also das Hydrochinon sich am Sauerstoffverbrauch beteiligt. Dem entspricht auch die Tatsache, daß die Hemmung sich mit zunehmender Hydrochinon-Konzentration (III ⟶ II ⟶ VI) verstärkt. In welchem Umfang Hydrochinon dehydriert wird, darüber läßt sich vorerst nichts aussagen. Chinon, d. h. Chinhydron, ist in jedem Fall zu Ende der Versuche nachzuweisen.

Ob der auffallend rasche Umsatz in IV auf eine durch die geringe Hydrochinonmenge bewirkte Aktivierung des Enzyms zurückzuführen ist, kann nicht behauptet werden, ehe das Ergebnis durch Wiederholung des Versuches sichergestellt ist.

Den exakten Nachweis der Dehydrierung von Hydrochinon erbringt die folgende Versuchsreihe.

Es ist dabei ein anderes Muskelpräparat als zuvor verwendet. Im übrigen sind die Bedingungen dieselben.

I ist der übliche Ansatz mit $^m/_{15}$-Succinat, der zum Vergleich dient. p_H überall 6,8.

	I	II	III	IV
Hydrochinon-Konzentration	0	$^m/_{50}$	$^m/_{100}$	$^m/_{500}$

In allen Ansätzen (außer I) ist Chinon entstanden. Die durch sein Auftreten herbeigeführte Selbsthemmung ist mit aller Deutlichkeit zu erkennen. Bemerkenswert erscheint der Umstand, daß der Umsatz in den Anfangszeiten nicht seine volle Höhe erreicht; dies äußerst sich schon bei der relativ hohen Konzentration in II. In der 10fach ver-

Digitized by Google

Tabelle 13.

Zeit (Min.)	I	II	III	IV
15	259	46	3	0
30	500	118	28	0
45	822	185	82	4
60	976	212	120	4
90	1395	254	199	11
120	1784	283	267	15
150	2143	302	307	24
180	2358	312	347	41
210	2509	331	369	49

dünnteren Lösung IV ist diese Induktionsperiode innerhalb der Ablesungszeit noch nicht zum Abschluß gelangt. Ein weiterer Versuch, der an anderem Material von Muskelbrei die enzymatische Dehydrierbarkeit von Hydrochinon bestätigt, ist in eine mit anderem Ziel unternommene Reihe eingeschaltet, die im nächsten Kapitel wiedergegeben wird (Tab. 15, S. 31).

Wir wollen noch erwähnen, daß es nicht gelingt, bei Gegenwart von Muskelbrei Hydrochinon durch *Fumarsäure* zu dehydrieren.

Eine Lösung von $^m/_{25}$-Natrium-fumarat, die auf $p_H = 6{,}8$ gepuffert war, wurde mit 0,5 g unseres Enzympräparates und $^m/_{12{,}5}$-Hydrochinon 48 Stunden lang bei 28,5° in einer Atmosphäre von reinstem Stickstoff im Thermostaten geschüttelt, ohne daß nach dieser Zeit die Bildung von Chinhydron auch nur in Spuren festzustellen war.

Dieses Ergebnis war zu erwarten, da die Hydrierungsenergie der Fumarsäure auf Grund der thermochemischen Verhältnisse kleiner ist als die des Chinons.

Die Hemmung der Bernsteinsäure-Dehydrierung durch Milchsäure-nitril.

Die durch Blausäure hervorgerufene Hemmung der Dehydrierung durch Essigsäurebakterien kann durch Zugabe von Acetaldehyd zu einem großen Teil wieder aufgehoben werden.[1]) Was an Hemmung übrig bleibt, geht auf die

[1]) A. 467 135 (1928).

Digitized by Google

spezifische Wirkung des entstandenen Cyanhydrins zurück. Bei der Succinodehydrase gelingt es auch, die antikatalytische Wirkung der Blausäure durch Acetaldehyd zu verringern, wenn auch nicht in so hohem Maße wie dort. Auch genügt es nicht, die der Blausäure äquivalente Menge Aldehyd zu verwenden.

Dieser graduelle Unterschied in der Gegenwirkung erklärt sich aus der viel stärkeren Hemmung, die das bei der Entgiftung entstehende Milchsäurenitril gegenüber der Succino-Dehydrase ausübt und die auch messend verfolgt wurde.

Die Reihe, die wir anführen, besteht aus 5 Ansätzen mit je 0,5 g Muskelbrei. $p_H = 7{,}4$. $T = 37°$.

I ist der normale Ansatz mit 0,5 g. $^m/_{25}$-Succinat.
II und III enthalten 4,75 ccm Succinat, 0,25 ccm $^m/_{10}$-HCN; deren Konzentration $^m/_{200}$.
IV und V enthalten 4,50 ccm Succinat, 0,50 ccm $^m/_{10}$-HCN; deren Konzentration $^m/_{100}$.

Man schüttelte die 5 Gefäße im Thermostaten und bestimmte die O_2-Aufnahmen innerhalb der ersten halben Stunde. Hierauf fügte man zu III 0,4 ccm, zu V 0,8 ccm $^m/_{10}$-Acetaldehyd und setzte nach 10 Minuten, die zum Temperatur- und Druckausgleich dienten, das Schütteln fort. Die Aldehydkonzentration beträgt jeweils das 1,6 fache von der der Blausäure.

	I	II	III	IV	V
Aufnahme in den ersten 30 Min.	471	19	18	8	10

Tabelle 14.

Zeit (Min.)	I	II	III	IV	V
15	—	19	28	8	10
30	939	25	50	11	22
60	1300	42	106	18	60
90	1540	57	164	26	99
120	1712	71	220	29	145
150	1808	94	272	36	188
180	1864	113	328	47	225
240	1903	145	429	57	298

III hat sich gegen II um 300 Proc., V gegen IV um etwa 500 Proc. erholt; gegenüber dem Normalversuch I

Digitized by Google

bleibt die Schädigung immerhin noch beträchtlich. Es ist noch zu bemerken, daß Acetaldehyd in $^{m}/_{65}$-Konzentration die Reaktionsgeschwindigkeit des Normalversuches um 8 bis 10 Proc. herabsetzt.

Fügte man den Aldehyd unmittelbar nach der Blausäure dem Ansatz zu, so trat — bei mehreren Versuchen — keine Erholung ein. Dies steht im Einklang mit der Feststellung, daß *Milchsäurenitril* das Enzym ebenso stark hemmt, wie Blausäure.

Es wurde frisch im Vakuum destilliertes Milchsäurenitril verwendet, dessen wäßrige Lösung mit $Ag^{\cdot}$ keine Trübung gab. In der gleichen Reihe sind 2 Versuche mit Hydrochinon eingesetzt, auf die oben (S. 29) verwiesen ist.

Überall 0,5 g Muskelbrei.

I Normalansatz mit 5 ccm $^{m}/_{25}$-Succinat.

II enthält Blausäure, III Milchsäurenitril in $^{m}/_{200}$-Konzentration, neben je 5 ccm $^{m}/_{25}$-Succinat.

IV 5 ccm $^{m}/_{25}$-Hydrochinon, V wie IV, dazu Blausäure $^{m}/_{200}$.

Tabelle 15

Zeit (Min.)	I	II	III	IV	V
30	530	76	79	145	114
65	1112	173	158	210	168
90	1518	193	180	233	188
120	1955	227	202	262	223
150	2221	258	220	281	250
180	2392	278	230	297	274
205	2481	289	262	326	318

Versuch IV mit Hydrochinon reiht sich mit seinem Ergebnis in die Reihe Tab. 13 ein. Die durch VI ausgedrückte Indifferenz der Hydrochinon-Dehydrierung gegen Blausäure, die von großem Interesse ist, wollen wir durch diesen bisher einzigen Versuch noch nicht als gesichert betrachtet wissen.

Aus II und III geht hervor, daß $^{m}/_{200}$-Blausäure und die gleiche Konzentration von Aldehydcyanhydrin gleich stark hemmen, daß auch der *gleichzeitige* Zusatz von Blausäure und Aldehyd, selbst bei einem Überschuß an diesem, keinen Rückgang der Hemmung bedingt. Wenn daher die in den vorausgehenden Versuchen behandelten Ansätze, bei

Digitized by Google

denen der Aldehyd erst nach einiger Zeit dem durch Blausäure geschädigten Gewebe hinzugefügt wurde, einen Rückgang der Hemmung zeigen, so müssen hierbei bisher undurchsichtige Verhältnisse an der Oberfläche eine Rolle spielen. Jener Versuch ist übrigens durch einen analogen Ansatz mit geringerer HCN-Konzentration in seinem Resultat bestätigt.

Über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. XXI. Über die dehydrierenden Enzyme der Milch;

von *Heinrich Wieland* und *Bruno Rosenfeld.*

Mit 12 Figuren im Text.

Inhaltsübersicht.

	Seite
Darstellung der Enzym-Präparate	35
Zur Frage der Einheitlichkeit des Schardinger-Enzyms	38
Das Enzymverhältnis in Magermilch und Rahm	44
Änderung des Enzymverhältnisses durch Adsorption	47
Adsorptionsversuche mit Calcium-oxalat	51
Kinetischer Vergleich der beiden Dehydrasen	52
Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Acidität	53
Die Abhängigkeit von der Substrat-Konzentration	56
Die Dehydrierung durch Sauerstoff	60
Versuche mit Xanthin	62
O_2-Absorptionsmessungen bei Gegenwart von Salicylaldehyd	63
Über den Mechanismus der oxydativen Purinbasen-Dehydrierung	68
Zur Frage der enzymatischen Dismutierung von Hypoxanthin und Xanthin	72
Versuche mit Sauerstoff	74
Versuche unter Stickstoff	77

Rohe Kuhmilch besitzt, wie Schardinger zuerst gefunden hat, die Fähigkeit, Methylenblau bei Gegenwart von

Digitized by Google

Formaldehyd zu entfärben. Mit dieser Reaktion hat sich der eine von uns vor 15 Jahren ausführlich beschäftigt[1]), aber diese Untersuchung hat bei den späteren Bearbeitern des Gebiets nicht die Beachtung erlangt, die ihr unserer Meinung nach zukommt.

Es wurde damals erkannt, daß das Enzym der Milch eine ausgesprochene Dehydrase darstellt, daß die Reduktion des Methylenblaus korrelativ mit dem Übergang von Aldehyd in Säure verbunden ist, daß in grundsätzlich gleicher Weise wie der Farbstoff molekularer Sauerstoff zur Dehydrierung des Aldehydhydrates herangezogen werden kann und daß schließlich auch die enzymatische Funktion der Cannizzaroschen Disproportionierung ihm zuzuschreiben ist. Man fand so ein und dasselbe Enzym mit drei katalytischen Aufgaben betraut, für die vorher kein Zusammenhang gefunden war, nämlich mit der einer „Reduktase", einer „Oxydase" und einer „Mutase". Sie erwiesen sich als erfüllt, je nachdem man dem durch die unitäre Dehydrase aktivierten Aldehydhydrat Methylenbau, Sauerstoff oder den nicht hydratisierten Aldehyd als Wasserstoffacceptor zu Verfügung stellte.

Als Substrate, die außer Aldehyden durch das Enzym der Milch sowohl mit Methylenblau wie mit molekularem Sauerstoff sich dehydrieren, d. h. zu Harnsäure oxydieren ließen, wurden dann von Hopkins[2]) und seinen Mitarbeitern die Oxypurine *Hypoxanthin* und *Xanthin* aufgefunden, eine vom biologischen Standpunkt aus sehr wichtige Entdeckung. Schon vorher hatte Bach[3]) den aufgeführten Wasserstoffacceptoren die (erheblich weniger wirksamen) Nitrate zugesellt.

Vor wenigen Jahren gelang es dann fast gleichzeitig Dixon und Thurlow[4]) sowie Sbarsky und Michlin[5]) den enzymatisch wirksamen Teil der Milch in fester Form zu isolieren und so zu stärker wirksamen, von manchen Nebenprodukten — nicht aber von Caseinogen — freien Präparaten zu kommen.

[1]) H. Wieland, B. 47, 2088 (1914).
[2]) Proc. Roy. Soc. 94, 109 (1922).
[3]) C. r. 164, 248 (1917).
[4]) Bio. Jl. 18, 971 (1924).
[5]) Bio. Z. 155, 485 (1925).

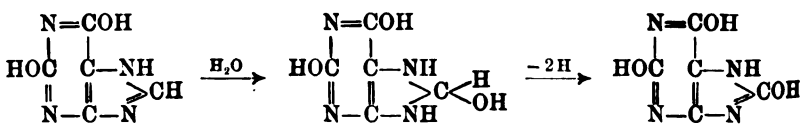
Digitized by Google

Es sind hauptsächlich 3 Gründe, die uns zur Wiederbearbeitung des früheren Themas bewogen haben. Zuerst wollten wir mit den inzwischen erheblich verfeinerten Methoden die damaligen Resultate erneut prüfen, wozu ein Anstoß vonseiten Bachs drängte. Bach und Nikolajew[1]) haben nämlich vor 3 Jahren auf Grund von Versuchen, von denen noch ausführlicher die Rede sein wird, bestritten, daß das Enzym der Milch die Fähigkeit habe, die Oxydation von Aldehyden durch Sauerstoff zu beschleunigen. Sie bestätigen zwar die Feststellung dieses Vermögens durch Wieland an der Milch selbst, finden es aber bei dem gereinigten, mit MB sehr wirksamen Enzym nicht mehr vor.

Zum zweiten hat die Heranziehung der Oxypurine als Wasserstoffdonatoren durch Hopkins, Dixon und ihre Schule die wichtige Frage aufgeworfen, ob ein und dasselbe Enzym ihnen und den Aldehyden dienstbar sei, oder ob es sich um zwei verschiedene Enzyme handle.

Schließlich haben vor 2 Jahren Bach und Michlin die höchst überraschende Beobachtung mitgeteilt, daß auch die Überführung von Hypoxanthin und Xanthin nicht auf dem Wege der „Oxydation" erfolge, sondern im Sinne einer neuartigen Dismutierung, wobei freilich über die der Harnsäure gegenüberstehende niedrigere Oxydationsstufe (entsprechend dem Alkohol bei der Cannizzaroschen Reaktion) nichts Positives ausgesagt werden konnte.

Der vor 6 Jahren gemutmaßte Mechanismus der Dehydrierung von Xanthin zu Harnsäure, bei dem ein primäres Hydrat als Zwischenstufe angenommen wird[2]):



dürfte dem Verständnis der Reaktion wohl gerecht werden. Hingegen kommt uns eine von dem Zwischenprodukt aus-

[1]) Bio. Z. **169**, 105 (1926).

[2]) H. Wieland in Oppenheimer, Handb. d. Biochem. **2**, 271 (1923).

Digitized by Google

gehende korrelative Hydrierung bzw. Dehydrierung, wie sie die Befunde von Bach und Michlin fordern, bei der schwierigen Reduzierbarkeit der Purinkörper recht unwahrscheinlich vor.

Um diese 3 Grundfragen gruppiert sich ein eingehendes Studium der kinetischen Verhältnisse der vorliegenden Enzymreaktionen und es schließt sich ihnen ein weiteres Eindringen in den Mechanismus der durch Sauerstoff vollzogenen Dehydrierung an.

Darstellung der Enzympräparate.

Wir haben es für unumgänglich notwendig gehalten, für alle Versuche möglichst sterile Milch als Ausgangsmaterial zu benutzen. Dies wurde uns ermöglicht durch das große Entgegenkommen des Direktors der Tierzuchtanstalt an der hiesigen Universität, Herrn Geheimrat Vogel, das uns in den Stand setzte, 2 Jahre hindurch steril gemolkene Milch unmittelbar vom Stall zu beziehen. Wir bringen Herrn Geheimrat Vogel auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank zum Ausdruck.

Die Milch — gewöhnlich von *einer* Kuh — wurde sofort nach dem Melken in eine Flasche gegeben, in der sich eine Lösung von wenig Thymol in Toluol befand, und umgeschüttelt. In diesem Zustand hielt sich die Milch, im Eisschrank aufbewahrt, 3 Wochen lang — längere Zeit wurde nicht geprüft —, ohne die geringste Minderung an enzymatischer Wirkung zu erfahren.[1]) Der absolute Enzymgehalt der Milch wechselt ein wenig in Abhängigkeit vom Futter und (wahrscheinlich mehr) vom Alter der Kühe; vor allem scheint von Einfluß, ob die Kuh kürzere oder längere Zeit vor der Milchentnahme gekalbt hat (vgl. dazu S. 43). Die Schwankungen bewegen sich, um eine runde Zahl zu nennen, ± 50 Proc. um einen Mittelwert.

Wir bedienten uns, um ein möglichst caseinarmes Material zu erhalten, unter Verzicht auf die in der Magermilch bleibenden Enzymmengen, im allgemeinen des Rahms, dessen hoher Enzymgehalt bereits von anderer Seite[2]) erkannt war. Eine verbesserte Methode von Dixon und Kodama, bei der das Casein durch Lab ausgefällt wird und bei der die Hauptmenge des Enzyms in der Molke bleibt und daraus mit Ammoniumsulfat ausgesalzen wird, hat uns trotz zahl-

[1]) Diese Feststellung deckt sich nicht mit den Angaben von Dixon u. Thurlow, Bio. Jl. 18, 972 (1924).

[2]) Bio. Jl. 20, 1104 (1926).

Digitized by Google

reicher Versuche und obwohl wir das von den englischen Autoren empfohlene Labferment („Birks Junket powder") benutzten, nicht zu befriedigenden Resultaten geführt.

1. Wir sonderten durch 10 Minuten langes Zentrifugieren unserer frischen, sterilen Milch zuerst den Rahm ab, verdünnten ihn mit dem doppelten Volumen Thymolwasser und schüttelten das Gemenge bei Gegenwart von Toluol über Nacht auf der Maschine. Beim Erwärmen des inhomogen gewordenen Flascheninhaltes auf 37° kam eine scharfe Scheidung der Buttermilch von der darüber schwimmenden Fett-Toluollösung zustande. Nach Einfrieren der wäßrigen Schicht wurde die Toluollösung abgegossen, dann spülte man einige Male mit reinem Äther nach. Der wieder verflüssigte Rückstand wurde mit $^1/_5$ seines Volumens $^m/_1$-Acetatpuffer-Lösung ($p_H = 4{,}5$) versetzt, zur Ausflockung des Caseins auf 37° erwärmt und nach dem Erkalten zentrifugiert. Die so erhaltene klare Fermentlösung entspricht ungefähr dem Extrakt aus der direkten Fällung von Buttermilch mit Aceton nach Sbarsky uud Michlin. Bei einer derart angereicherten Lösung muß man einen beträchtlichen Verlust an Enzym, das an dem ausgefällten Casein adsorbiert bleibt, in Kauf nehmen.

2. Das Verfahren vereinfacht sich, wenn man den durch anhaltendes Zentrifugieren der Milch bei 4000 Umdrehungen pro Minute möglichst konzentrierten Rahm, der beinahe die Konsistenz von Butter hat, von der Magermilch abhebt und die feste Schicht, in einer flachen Schale dünn ausgebreitet, über konz. Schwefelsäure und viel festem Ätzkali im Vakuumexsiccator, zuerst bei 11 mm, dann an der Ölpumpe trocknet. Die butterschmalzähnliche Masse wird in einer Hülse im Soxhletapparat mit reinstem absoluten Äther, hierauf noch mit über Natrium destilliertem Petroläther (Siedep. 25—38°) erschöpfend extrahiert. Das zurückbleibende trockne Pulver ist sehr wirksam und haltbar. In Wasser von 37° löst sich das Präparat in $^m/_{20}$-Phosphatpufferlösung $p_H = 8{,}0$ zu einer schwach opalescierenden Flüssigkeit, in der noch einige Caseinflöckchen herumschwimmen. Durch Schütteln mit wenig Aluminium-hydroxyd C[1]) wird die Lösung, ohne viel an Wirksamkeit einzubüßen, fast völlig klar. Dieses Trockenpräparat wurde in Form der mit Tonerde gereinigten Lösung für die zu beschreibenden Versuche benutzt. Es ist als „Ferment aus Rahm" bezeichnet. Die Angabe von Sbarsky und Michlin, daß das trockne Pulver unter niedrig siedendem Petroläther (über Na dest.) haltbarer ist, als beim Aufbewahren im Vakuumexsiccator, finden wir zutreffend. Es wurde demgemäß verfahren. Für die Versuche wurde eine kleine Menge mit einem Nickelspatel auf eine Scheibe gehärteten Filtrierpapiers aufgestrichen, wobei der Petroläther nach ganz kurzer Zeit verdunstet ist.

[1]) Nach Willstätter u. Kraut, B. 56, 1117 (1923).

Digitized by Google

Über die Wirksamkeit der dargestellten Präparate wird später (S. 46) berichtet.

Adsorptionsversuche. Dixon und Kodama[1]) haben durch wiederholtes Schütteln mit Tierkohle ihre Fermentlösungen ohne großen Wirkungsverlust von der Hauptmenge des Eiweißes befreit. Kaolin erwies sich geeignet, in schwach saurem Medium ($p_H = 5$) das Enzym fast vollständig zu adsorbieren. Durch 1-proc. Sodalösung ließ es sich zu 50—60 Proc. wieder herausholen. In ähnlicher Weise sind Sbarsky und Michlin[2]) verfahren.

Wie erwähnt, haben wir zur Reinigung unserer Enzymlösungen eine gelinde Adsorption der Eiweißbegleiter an Tonerdehydrat vorgenommen. Um uns über die Adsorptionsverhältnisse bei Anwendung dieses Mittels genauer zu unterrichten, haben wir für $p_H = 8{,}0$ die Adsorptions-isotherme bestimmt, um, auch für spätere Versuche, eine quantitative Unterlage zu haben. Weitere Adsorptionsversuche werden auf S. 47 u. f. behandelt.

Das zu den Bestimmungen benutzte Aluminium-hydroxyd C wurde zu den Versuchen mit Glaskugeln auf der Maschine $^1/_2$ Stunde lang zu einer homogenen Suspension aufgeschüttelt. 1 ccm davon enthielt 15 mg Tonerde.[3]) Von dieser Suspension wurden steigende Mengen zu je 8 ccm der gleichen Fermentlösung, die mit $^m/_{15}$-Phosphat auf $p_H = 8$ gepuffert war, zugefügt. Gesamtvolum überall 6 ccm. Dann wurde 2—3 Minuten lang geschüttelt, abzentrifugiert und in jeweils 2 ccm der Restlösung die Aktivität bestimmt. Über die Bestimmungsmethode vgl. S. 40.

Hier müssen wir vorwegnehmen, daß wir die Wirksamkeit in Xanthin-dehydrase-Einheiten (X E) ausdrücken; die Bedeutung dieser Größe wird a. a. O. definiert.

Die nachfolgende Tabelle verzeichnet die Veränderung der Aktivität (b) in Abhängigkeit von der Menge des verwandten Tonerde-hydrats (a):

a) mg	0	1,5	3,0	4,5	7,5	15,0	30,0	45,0
b) X E/6 ccm . .	8,34	7,90	6,52	4,84	3,49	1,54	0,72	0
Adsorption in X E	—	0,44	1,82	3,50	4,85	6,80	7,62	8,34

Bezieht man die Abnahmen in den einzelnen Versuchen auf die Adsorptionsleistung von jeweils 1 g Adsorbens (A. W.),

[1]) Bio. Jl. 20, 1106 (1926). [2]) Bio. Z. 174, 116 (1926).

[3]) Die Gewichtsangaben für das Adsorbens stellen im folgenden stets die Menge des durch Glühen erhaltenen Al_2O_3 dar.

Digitized by Google

die in der Restlösung noch enthaltenen XE auf 1 Liter Lösung, so erhält man die nachstehende Kurve (Fig. 1).

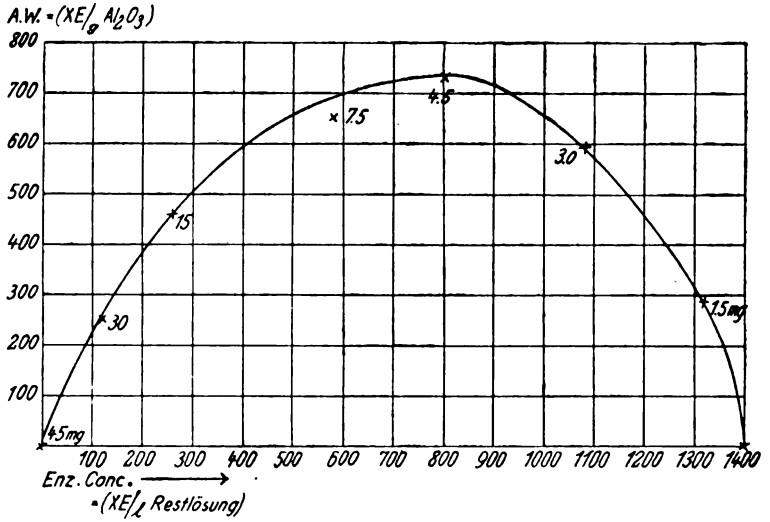


Fig. 1. Adsorptions-Isotherme von Xanthin-dehydrase an $Al(OH)_3$; p_H = 8,0.

Sie zeigt, daß man für unsere Enzymlösung das Adsorbens nicht über 1,5 mg steigern darf, will man größere Verluste vermeiden.

Über den Grad der Befreiung von unwirksamen Begleitstoffen wurde man dadurch unterrichtet, daß man die demgemäß gewonnene Restlösung erschöpfend dialysierte und dann in der Lösung den Trockengehalt bestimmte. Die Aktivität war von rund 0,5 auf 1,5 XE/mg gesteigert. Bezogen auf 1 mg Trockengehalt von Milch ist das Enzympräparat 300 mal aktiver.

Mit diesen Versuchen sollte lediglich ein erster Einblick in die Adsorptionsverhältnisse gewonnen werden.

Zur Frage der Einheitlichkeit des Schardinger-Enzyms.

Wie in der Einleitung erwähnt ist, bestand ein Ziel der Untersuchung darin, festzustellen, ob die Dehydrierung

Digitized by Google

der Aldehyde und Purinkörper in der Milch von *einem* Enzym beschleunigt wird oder ob sich diese Leistung auf zwei verschiedene Enzyme zurückführt.

Die bisherigen Messungen und Wirksamkeitsbestimmungen der Milch und der daraus dargestellten Enzympräparate sind, soweit wir sehen, einseitig gewesen, indem im Cambridger Institut vornehmlich mit *Xanthin* und *Hypoxanthin*, von den russischen Autoren dagegen mit *Aldehyden* als Dehydrierungssubstrat gearbeitet wurde. Auffallenderweise hat man noch nie an der gleichen Enzymlösung die Aktivität gegenüber den beiden Gruppen von Wasserstoffdonatoren vergleichend gemessen. Wir haben von Anfang an die Geschwindigkeitsmessungen nach beiden Richtungen hin ausgeführt und sind dabei zu Ergebnissen gekommen, die kaum einen Zweifel darüber lassen, daß zwei verschiedene Fermente vorliegen.

Es hat sich gezeigt, daß die Entfärbungszeiten, die den Ausdruck für die Reaktionsgeschwindigkeit darstellen, für Xanthin und Salicylaldehyd von Milch zu Milch in recht bedeutenden Grenzen schwanken. Daß sie an sich, unter der Wirkung eines einheitlichen Ferments, von verschiedener Größe sein würden, ist an sich wahrscheinlich. Aber dann sollte das gleiche Verhältnis auch für den Fermentinhalt verschiedener Milchsorten gelten, was durchaus nicht der Fall ist.

Es ist unerläßlich, sich einfacher Maße für den Grad der enzymatischen Wirkung zu bedienen. Der eine von uns hat in der früheren Abhandlung die „Methylenblauzahl" als Maßstab vorgeschlagen. Darunter wird die Anzahl ccm $^{n}/_{100}$-MB-Lösung verstanden, die 1 Liter Milch bei 60° bei Gegenwart von 1 g Salicylaldehyd in 5 Minuten reduziert. Die Methode, durch die diese Zahl bestimmt wird, geht nicht auf Entfärbung, sondern man bringt einen gewissen Überschuß von Farbstofflösung auf 20 oder 50 ccm Milch zur Einwirkung und titriert nach 5 Minuten den noch vorhandenen Farbstoff mit Natriumhydrosulfit — oder wohl besser mit $TiCl_3$.

Diese durchaus sachgemäße Normierung ist sehr ge-

Digitized by Google

eignet für die vergleichende Enzymbestimmung verschiedener Milchsorten. Aber die Methode war für unsere Zwecke zu wenig scharf, verlangte auch zu viel Probematerial. Wir führen daher Enzymeinheiten ein, wie sie sich direkt aus dem nachher zu schildernden, die optimalen Reaktionsbedingungen berücksichtigenden Verfahren ergeben.

Eine Xanthindehydrase-Einheit (XE) ist die Enzymmenge, die bei Gegenwart von 0,2 ccm $^{m}/_{100}$-Xanthin bei $p_H = 8{,}0$ im Gesamtvolumen von 5,0 ccm 1 ccm $^{n}/_{1000}$-Methylenblau bei 37,0° in 5 Minuten entfärbt.

Eine Salicylaldehydrase-Einheit (SaE) ist die Enzymmenge, die bei Gegenwart von 0,2 ccm $^{m}/_{50}$-Salicylaldehyd[1]*) bei $p_H = 8{,}0$ im Gesamtvolumen von 5,0 ccm 1 ccm $^{n}/_{1000}$-Methylenblau bei 37,0° in 5 Minuten entfärbt.*

Die Bedingungen, unter denen wir die Größe der Enzymwirkung gemäß dieser Definition bestimmen, sind hinsichtlich der Substratkonzentration (vgl. S. 56), aber nicht ganz hinsichtlich der Acidität (S. 53) die optimalen. Sie stellen die geeignetste Grundlage für den Vergleich der beiden Enzymwirkungen dar.

Die *Bestimmung der enzymatischen Wirksamkeit*, die von der Milch aus durchgeführt wurde, ging von der Geschwindigkeit der MB-Entfärbung aus und zwar gleichlaufend unter Verwendung von Xanthin und von Salicyl-aldehyd als Substrat. Die Bestimmungen von Dixon und Thurlow[2]) beweisen, daß unter den auch von uns gewählten Bedingungen die Entfärbungszeit der Enzymmenge proportional geht. Wir selbst haben diese Tatsache, wie noch dargetan wird, durchaus bestätigt.

Um die Methode auch für sehr kleine Entfärbungszeiten brauchbar zu machen, insbesondere um den Zeitpunkt des Versuchsbeginns genau festzulegen, hat sich eine kleine Änderung der Thunbergschen Anordnung als notwendig erwiesen. Wir vermeiden, wie dies bereits Bertho an-

[1]) Die optimale Konzentration von Salicylaldehyd (vgl. S. 58/59) ist doppelt so groß wie die von Xanthin. Die Einheiten für die verschiedenen Aldehyde sind, wie später gezeigt wird, nicht gleich.

[2]) Bio. Jl. 18, 971 (1924).

Digitized by Google

gegeben hat[1]), die Durchführung der Reaktion im Vakuum, das die Konzentration flüchtiger Substanzen (Aldehyde, Blausäure) verändert, und verdrängen den Luftsauerstoff durch Evakuieren vor Beschickung der Röhre und durch nachfolgendes Einleiten von reinstem Stickstoff. Wesentlich ist aber vor allem, daß Methylenblau und flüchtige, nicht mit ihm reagierende Zusätze in die bereits für den Versuch vorbereitete Röhre durch eine aufsetzbare Mikro-Bürette zugelassen werden. Die Anordnung ergibt sich aus der Zeichnung (Fig. 2).

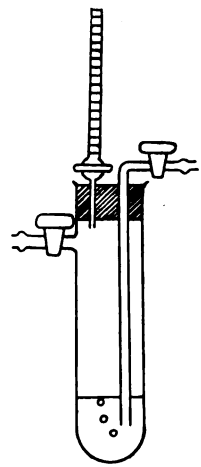


Fig. 2.

In die Röhre wird zunächst Ferment, Substrat[2]) und Pufferlösung eingebracht, dann wird der Gummistopfen mit dem Einleitungsrohr für Stickstoff aufgesetzt und die Luft durch absolut reinen Stickstoff (aus einem Glasgasometer) verdrängt, nachdem man das Reaktionsgefäß im Thermostaten befestigt hat. Der zur Pumpe führende Hahn ist geschlossen. Nach etwa 3 Minuten wird die Bürette eingesetzt, der Stickstoffhahn geschlossen und vorsichtig bis zum beginnenden Sieden der Lösung an der Wasserstrahlpumpe evakuiert. Nun läßt man wieder bis zur Aufhebung des Vakuums Stickstoff eintreten, evakuiert abermals und füllt jetzt das Vakuum so langsam mit Stickstoff auf, daß die MB-Lösung etwas vorher und zwar noch unter der Rührwirkung des einperlenden N_2 eingelassen werden kann. Sobald bei ziemlich raschem Zufluß der Meniscus der blauen Lösung den Teilstrich erreicht hat, der der Hälfte der erforderlichen Menge entspricht, drückt man die Stoppuhr und läßt ohne Unterbrechung die zweite Hälfte zufließen. Diese Methodik erlaubt es, Entfärbungszeiten bis zu 1 Minute herab mit einer Genauigkeit von 3—4 Proc. sicher zu bestimmen.

Die Konzentration des MB in der Lösung war stets $^n/_{5000}$. Die 0,20-proc. Stammlösung wurde, mit $^n/_{50}$-$TiCl_3$ titriert, 0,001 035 normal gefunden. Das Präparat hatte demnach das Mol.-Gew. 400 und enthielt etwas mehr als 4 Mol H_2O.

Xanthin wurde in der eben erforderlichen Menge verd. NaOH zu $^m/_{100}$ gelöst, Hypoxanthin in Wasser. Beide Lösungen wurden unter Toluol aufbewahrt.

---

[1]) A. 474, 1 (1929).

[2]) Aldehyd gelangt erst mit der MB-Lösung in die Röhre.

Digitized by Google

Die Anzahl der XE und SaE charakterisiert jede Enzymlösung mit aller Schärfe. Die Beziehungen dieser Normung zur Methylenblauzahl der Milch sind sehr einfach. Die Anzahl der SaE pro ccm Milch × 100 ist gleich MZ bei 37°. Die Kennzeichnung der Temperatur ist notwendig, weil die MZ früher bei 60° bestimmt wurde. Aus diesem Grunde sind die früher bestimmten Werte höher als die jetzigen.

Diese einfache und bequeme zahlenmäßige Kennzeichnung der Enzymwirksamkeit ist, das sei nochmals hervorgehoben, begründet auf dem linearen Verlauf der MB-Reaktion und auf der Tatsache, daß das Produkt aus Entfärbungszeit und Menge wirksamen Enzyms konstant ist. Von der Wiedergabe zahlenmäßiger Belege sehen wir ab. Die nachstehende Kurve (Fig. 3) bringt nur den linearen Verlauf der Reaktion zum Ausdruck. Die Fermentlösung enthielt 0,91 XE.

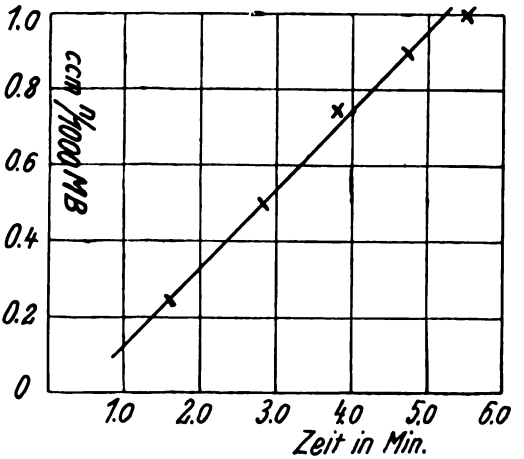


Fig. 3. MB-Entfärbung durch Xanthin-dehydrase.

Die enzymatische Wirksamkeit der Milch gegenüber Xanthin sowie Salicylaldehyd.

Wir kommen jetzt zuerst zur Wiedergabe der Bestimmung von XE und SaE in den verschiedenen Milchsorten, die wir im Laufe dieser Arbeit vorgenommen haben.

Digitized by Google

Es wurden für jede Bestimmung 2 ccm Milch verwendet, die Entfärbungszeiten wurden nach der geschilderten Methode ermittelt. Die Fehlerbreite ist mit 5 Proc. sehr hoch angegeben. In der vierten Horizontalreihe der nachstehenden Tabelle ist jeweils das Verhältnis der beiden Enzymkonzentrationen in Einheiten X E/Sa E aufgeführt.

Tabelle 1.

2 ccm Milch vom	Winter 27/28*)	5. XII. 1927	XII. 27*)	13. VI. 1928	25. VI. 1928	17. VII. 1928	28. XI. 1928
X E . . .	1,45	1,20	1,22	4,30	4,80	4,50	4,35
Sa E . . .	2,0	1,67	1,60	1,78	1,54	1,35	1,45
X E/Sa E	0,73	0,72	0,76	2,41	3,11	3,33	3,0

2 ccm Milch vom	10. XII. 1928	10. I. 1929	21. I. 1929	1. II. 1929	18. VI. 1929	10. VII. 1929
X E	5,00	3,30	3,94	5,17	7,0	4,0
Sa E	1,59	1,08	1,37	1,53	1,30	1,20
X E/Sa E . . .	3,1	3,0	2,88	3,4	5,4	3,33

*) Hier war versehentlich das Datum des Versuchs nicht vermerkt.

Man sieht aus der Tabelle, daß der Gehalt an Aldehydrase keine bedeutenden Schwankungen aufweist; er wechselt um den Mittelwert von 1,5 Einheiten mit einem Ausschlag von rund 20 Proc. nach beiden Seiten. Dagegen weist der Gehalt an Xanthindehydrase sehr große Verschiedenheit auf, indem einem Mittelwert von 3,86 Gehalte von 1,2 und 7,0 gegenüberstehen. Es fällt auf, daß der X E-Wert der drei ersten Proben in besonders hohem Maße von den übrigen abweicht. Die Milch stammte von der gleichen Kuh, die trächtig war. Einige Monate nach der Kalbung war der Xanthindehydrasegehalt der Milch von eben dieser Kuh auf mehr als den 3 fachen Wert gestiegen (Milch vom 13. VI. 28). Vielleicht erweckt diese Beobachtung einiges biologisches Interesse und regt zu weiteren Untersuchungen an.

Aber auch wenn wir die drei ersten Bestimmungen nicht berücksichtigen, bleibt doch noch eine starke Schwankung im Xanthindehydrasegehalt bestehen. Um

Digitized by Google

einen Mittelwert von 4,65 Einheiten gruppieren sich Werte von 3,3 und 7,0.

Es ist der große Unterschied an X E, weniger der an Sa E, der die Inkonstanz des (in der Tabelle fett gedruckten) Quotienten bedingt.

Das Enzymverhältnis in Magermilch und Rahm.

Ist so das Verhältnis der Enzymmengen für verschiedene Milchsorten verschieden, so bewirkt auch die Aufteilung einer und derselben Milch in Magermilch und Rahm eine und zwar noch größere Änderung dieses Verhältnisses. Daß im Rahm sich die enzymatische Wirkung gegen Aldehyd erhöht, haben Sbarsky und Michlin[1]) bereits beobachtet.

Tabelle 2.

	I. Milch vom 17. VII. 28 (685 ccm)			II. Milch vom 28. XI. 28 (500 ccm)		
	1 ccm Milch	1 ccm Magermilch	1 ccm Rahm	1 ccm Milch	1 ccm Magermilch	1 ccm Rahm
X E . . .	2,25	1,74	9,40	2,17	1,40	8,38
Sa E . . .	0,67	0,60	1,25	0,78	0,61	1,47
X E/Sa E .	3,36	2,90	7,52	3,0	2,3	5,67

Man sieht, daß das Verhältnis von Xanthin- zu Aldehyddehydrase sich im Rahm gegenüber der Milch verdoppelt hat, während es in der Magermilch kleiner geworden ist.

Wir können uns diese Tatsache nicht anders erklären, als durch die Annahme, daß der Rahm ein größeres Adsorptionsvermögen gegenüber dem darin so stark vorwiegenden Ferment besitzt als gegenüber der Aldehydrase.

Wenn wir aus den beiden Versuchsreihen die Bilanz der enzymatischen Wirksamkeit ziehen, so kommen wir zu folgendem Ergebnis:

[1]) Bio. Z. 155, 485 (1925).

Digitized by Google

Tabelle 3.

	XE		SaE	
685, 500 ccm Milch enthalten . . .	1540	1085	458	363
630, 460 ccm Magermilch enthalten .	1095	644	378	280
100, 100 ccm Rahm[1]) enthalten . . .	940	833	125	147
Magermilch + Rahm	2135	1477	503	427
Mehrausbeute	595	392	45	64
In Procenten	38,7	36	10	17

Die Scheidung der Milch in Magermilch und Rahm führt zu einer Erhöhung der enzymatischen Wirksamkeit und zwar gegenüber Xanthin um rund 38 Proc., gegenüber Salicylaldehyd um rund 14 Proc.

Eine weit stärkere Steigerung, nämlich um 400 Proc. ist von Dixon und Kodama[2]) für die Dehydrierung des Xanthins festgestellt worden; ihre Arbeitsmethode ist eine andere als die von uns angewandte und es liegt vorläufig außerhalb der Richtung unserer Untersuchung, diese auffallende Angabe zu verfolgen.

Man könnte daran denken, daß die beobachtete Überschreitung der Enzymbilanz durch eine Aktivierung des Enzyms durch den Rahm verursacht sei, da Dixon und Thurlow durch Zusatz von gekochtem Rahm zu ihrer Xanthin-dehydrase eine Erhöhung der Wirkung festgestellt haben, die sie allerdings nicht zahlenmäßig belegen.

Daß eine solche Steigerung der Aktivität durch oberflächenaktive Stoffe möglich ist, zeigt eine Versuchsreihe, bei der steigende Mengen einer kolloiden Cholesterinlösung einer Fermentlösung zugesetzt wurden. Man erhielt sie durch Eingießen einer Lösung von 25 mg Cholesterin in 1 ccm Aceton in 50 ccm Wasser.

Tabelle 4.

mg Cholesterin pro 5 ccm Lösung	0	0	0,02	0,05	0,1	0,25	0,50	1,0
XE	2,50	2,57	2,78	3,45	3,33	3,33	3,23	3,23

[1]) Der Rahm war in beiden Reihen wegen der quantitativen Abtrennung mit Wasser auf 100 ccm verdünnt.

[2]) Bio. Jl. 20, 110 (1926).

Digitized by Google

Die maximale Steigerung beträgt 32 Proc., also — wohl zufällig — ebensoviel wie bei den zuletzt beschriebenen Versuchen.

Eine Aktivierung gleicher Art ist aber im Fall der Wirkungserhöhung im Rahm deshalb unwahrscheinlich, weil auch das trockene, durch Extraktion mit Äther und Petroläther von Fett und Lipoiden befreite Präparat (siehe S. 36) seine Wirkungsstärke behalten hatte.

X E/Sa E wurde zu 5,75, gegen vorher 5,67 bestimmt.

Wir glauben daher eher, daß durch die Entrahmungsprozedur auf irgendeine Weise mehr Enzym freigelegt wird, als in der Milch. Die Mehrausbeute könnte dabei ebensogut in der Magermilch wie im Rahm enthalten sein.

Wir führen schließlich noch einen weiteren Beleg für die Verschiebung des Aktivitätsquotienten an.

Aus Milch vom 21. I. 29 mit einem X E/X Sa von 2,88 wurde der Rahm abzentrifugiert. Die nach den Angaben auf S. 36 daraus hergestellte Buttermilch enthielt die beiden Enzyme im Verhältnis 4,8.

Bei der Beschreibung des Verfahrens, nach dem die in dieser Untersuchung benutzten Enzympräparate bereitet wurden, fehlt die Beschreibung der Wirksamkeit der einzelnen Stufen. Wir konnten sie nicht geben, ehe die mit den beiden Substraten, Xanthin und Aldehyd, vorgenommene Bestimmungsmethode und der Sinn ihrer nach diesen beiden Seiten gerichteten Durchführung besprochen war. Jetzt ist die Gelegenheit gegeben, dies nachzuholen, da die Ergebnisse dieser Prüfung erneut die Verschiebung der beiden Enzymwirkungen dartun.

Die in der Tabelle angegebenen Enzymeinheiten beziehen sich auf 10 mg Trockensubstanz. 3 Sorten Milch: I, II, III.

Tabelle 5.

a = Milch, b = Enzympräparat.

	I		II		III	
	a	b	a	b	a	b
X E . . .	0,058	4,5	0,048	5,0	0,048	4,7
Sa E . . .	0,080	1,5	0,064	1,1	0,067	1,4
X E/Sa E .	0,725	3,0	0,75	4,54	0,72	3,36

Digitized by Google

Das Verhältnis verschiebt sich um das 4—6 fache. Während durch die Entrahmung im Rahmpräparat die Aktivität der Xanthindehydrase auf rund das 100 fache gestiegen ist, beträgt sie bei der Aldehydrase nur das 20 fache.

Es sei gleichzeitig erwähnt, daß die Wirksamkeit des aus dem Rahm gewonnenen Enzyms innerhalb ziemlich weiter Grenzen von der Aktivität der Milch unabhängig ist.

So ergab eine Milch von 0,13 X E/10 mg trocken ein Präparat mit 5,0 X E/10 mg, eine solche mit 0,084 X E ein Präparat mit 6,5 X E.

Es sieht so aus, als ob von der gleichen Rahmmenge ungefähr die gleiche Enzymmenge adsorbiert werde. Jedoch ist die Wirksamkeit des Rahms auch davon abhängig, ob die Scheidung sofort nach dem Melken der Milch oder erst nach mehreren Stunden vorgenommen worden ist. Im ersten Fall findet man die Magermilch ärmer an Enzym. Diese Erscheinung hängt wohl mit der Oberflächenverminderung der adsorbierenden Fetttröpfchen zusammen.

Bei Milch von hohem Enzymgehalt wird man zweckmäßig von der Magermilch ausgehen, in der durchschnittlich 50—60 Proc. der Aktivität zurückbleiben.

Änderung des Enzymverhältnisses durch Adsorption.

Die gemachten Erfahrungen legten Versuche nahe, mit den Mitteln der Willstätterschen Adsorptionstechnik eine weitere Trennung der beiden Enzyme durchzuführen.

Zuerst verwandte man Tonerdehydrat C bei $p_H = 8{,}0$ als Adsorbens, wie bei den Versuchen mit einseitiger Prüfung der Aktivität auf X E (S. 37), indem man 100 ccm einer 1-proc. Lösung des aus Rahm dargestellten Trockenferments mit der Aufschlämmung von 50 mg[1]) des Präparats in 3,3 ccm Wasser versetzte, einige Zeit schüttelte und nach dem Zentrifugieren den Quotienten bestimmte. Auf dieselbe Weise wurde noch zweimal verfahren.

Wie die Tabelle lehrt, wird unter diesen Umständen Xanthin-dehydrase stärker adsorbiert, aber der Unterschied ist nicht groß.

Zur Bestimmung kamen je 8 ccm.

[1]) Vgl. Anm. 8 auf S. 37.

Digitized by Google

Tabelle 6.

Zahl der Adsorptionen	0	1	2	3
X E	2,27	1,70	1,45	1,17
X Sa	0,63	0,64	0,58	0,45
X E/X Sa	3,60	2,66	2,46	2,60

Weit größere Ausschläge, und zwar im entgegengesetzten Sinne, unter Vergrößerung des Quotienten, wurden erreicht, als man mit dem gleichen Adsorptionsmittel in schwach saurem Medium arbeitete. Es zeigte sich, daß die selektive Adsorption hier in weitgehendem Maße durchführbar ist, daß sie aber von geringen Abstufungen der Acidität abhängt.

Wir verwendeten hier Magermilch von X E/Sa E = 3,00 und stellten im ersten Versuch mit $^m/_1$-Acetatpuffer ein p_H von 5,0 her. Unter diesen Bedingungen wird die Aldehydrase vorwiegend adsorbiert, — der Quotient erhöht sich in der Lösung.

Wir geben nur das Ergebnis dieses Versuches wieder, im einzelnen wurde wie bei dem nächsten Versuch, dessen Einzelheiten beschrieben sind, verfahren.

Tabelle 7.

Zahl der Adsorptionen	Je 2 ccm Magermilch				
	0	1	2	3	4
X E	3,09	2,88	2,78	2,78	3,48
Sa E	1,08	0,80	0,72	0,68	0,82
X E/Sa E	3,00	3,60	3,86	4,33	4,25

Beim isoelektrischen Punkt des Caseins, $p_H = 4{,}6$, vollzieht sich die Adsorption der Aldehydrase an Tonerde in viel weiterem Maße.

Zu je 20 ccm Magermilch wurden 5 ccm $^m/_1$-Acetatpuffer $p_H = 4{,}6$ gegeben; diese große Menge ist erforderlich, um des starken Pufferungsvermögens des Caseins in der Magermilch ($p_H = 6{,}0$) Herr zu werden.[1])

[1]) Vgl. dazu F. Lebermann, Bio. Z. **206**, 56 (1929).

Digitized by Google

Außerdem erhielten die einzelnen Lösungen folgende Zusätze an $Al(OH)_3$ in Gestalt der 15-proc. Suspension.

	1	2	3	4
ccm Wasser	10	7	4	—
ccm Tonerde-suspension	—	3	6	10

Die Lösungen wurden 2—3 Minuten lang geschüttelt und dann zentrifugiert.

Zur Messung des Dehydrasegehalts wurden die abzentrifugierten Lösungen mit der colorimetrisch ausprobierten Menge $^n/_2$-Ammoniaks auf $p_H = 8$ gebracht. Zur Bestimmung wurden je 4,0 ccm verwendet. Die Werte sind auf die Grundlage von 2 ccm Magermilch umgerechnet.

Tabelle 8.

	Magermilch (2 ccm)	1	2	3	4
X E	3,00	4,10	4,17	3,57	3,27
Sa E	0,99	0,54	0,51	0,42	0,23
X E/Sa E	3,0	7,6	8,2	8,5	14

In Ansatz 4 ist eine Fermentlösung gewonnen, in der die Aldehydrase nur mehr zu 7 Proc. an der Wirksamkeit beteiligt ist. Ansatz 1 zeigt, daß schon die vorgenommene Aciditätsänderung auf $p_H = 4{,}6$, ohne Beteiligung des Adsorptionsmittels, eine bedeutende Verschiebung herbeiführt.

Der Unterschied wird auf uns unerklärliche Weise noch erheblich größer, wenn man zur Neutralisation der sauren Molke (p_H 4,5 —➤ 8,0) statt des Ammoniaks *Natriumbicarbonat* verwendet.

a) 20 ccm Magermilch + 20 ccm $^m/_5$-KH_2PO_4 wurden mit 1 ccm 1-proc. Lablösung bei 37° zum Gerinnen gebracht, nach dem Erkalten wie üblich zentrifugiert und die Molke mit 0,5 g $NaHCO_3$ neutralisiert.

b) 20 ccm von der gleichen Magermilch wurden mit 5 ccm Acetatpuffer $p_H = 4{,}5$ bei 37° koaguliert; nach dem Ausflocken wurden 0,3 g $NaHCO_3$ hinzugefügt. Das Casein war nicht entfernt.

c) Der gleiche Ansatz wurde mit 2 ccm $^m/_1$-Puffer 4,5 wie unter a) zum Gerinnen gebracht. Nach Neutralisation mit 0,5 g Bicarbonat wurde das ausgeflockte Casein unter Rühren mit einem Glasstab in Lösung gebracht.

d) Der gleiche Ansatz erhielt 10 ccm $^n/_1$-Ammoniak, dann wurde mit 4,4 ccm $^n/_1$-HCl auf $p_H = 8{,}0$ zurückgebracht.

e) 20 ccm derselben Magermilch werden ohne weiteres mit 1 ccm Lablösung bei 37° koaguliert, aufgerührt und zentrifugiert.

Digitized by Google

f) 20 ccm einer anderen Magermilch ($p_H \sim 6{,}0$) wurden mit 0,5 g $NaHCO_3$ auf $p_H = 8{,}2$ gebracht.

Wir bringen auf Tab. 9 die Veränderung der Wirksamkeit, die durch die beschriebenen Prozeduren verursacht worden ist. Die Werte gelten immer für die 2 ccm Magermilch entsprechende Menge.

Die Enzym-Einheiten der beiden Sorten Magermilch werden zuerst angegeben; sie sind nahezu gleich.

Tabelle 9.

Magermilch von	a—c	f
X E	2,86	2,60
Sa E	0,62	0,62
X E/Sa E	4,6	4,2

	a	b	c	d	e	f
X E	3,57	4,0	3,33	1,92	3,84	4,0
Sa E	0,09	0,11	0,084	0,22	0,55	0,1
X E/Sa E	40	36,1	40	8,7	7,0	40

In dem abzentrifugierten Casein von e wurden, bezogen auf 2 ccm Magermilch, 0,46 X E, 0,063 Sa E, X E/Sa E = 7,3 festgestellt.

Die angeführten Versuche zeigen, daß die ungemein hohe Steigerung des Quotienten in a, b, c und f in der Molke nicht durch die Abtrennung des Caseins an sich hervorgerufen wird, denn in c und f befindet sich der Eiweißstoff noch in der Lösung. Sie kommt zustande durch eine bedeutende Aktivierung der Xanthin-dehydrase (von 2,86 auf durchschn. 3,7 X E), vorwiegend aber durch die viel stärkere Hemmung der Aldehyd-dehydrase[1]) (von 0,62 auf durchschn. 0,1 Sa E). Ob diese, wie man bei der Betrachtung der einzelnen Ansätze annehmen möchte, durch die saure Reaktion bewirkt ist, oder ob ein spezifischer Einfluß der Kohlensäure vorliegt (vgl. dazu f), bleibt noch genauer zu untersuchen.

Adsorptionsversuche mit Molke bei $p_H = 4{,}6$.

120 ccm Magermilch wurden mit 30 ccm $^m/_1$-Acetatpuffer versetzt. Beim Erwärmen dieser Lösung auf 37° verschwindet die milchige Trübung und das Casein kommt zur Ausflockung. Sobald sie vollständig war, wurde mit Eis gekühlt und das Casein auf der Zentrifuge abgetrennt.

Die so gewonnene Molke wurde mit zunehmenden Mengen Tonerde-

[1]) Vgl. dazu auch D. Michlin, Bio. Z. 202, 334 (1928).

Digitized by Google

Suspension geschüttelt, dann jeweils zentrifugiert. Sie war mit steigendem Zusatz von Adsorptionsmittel klarer geworden.

	I	II	III	IV
Die Zusätze an $Al(OH)_3$ betrugen in mg:	7,5	30	75	150.

Die einzelnen Lösungen wurden mit Wasser auf gleiches Volumen aufgefüllt.

Tabelle 10.

	Molke	I	II	III	IV
XE	3,12	3,22	2,73	2,50	0,63
SaE	0,56	0,56	0,44	0,25	0,05
XE/SaE	5,6	5,8	6,2	10,0	12,5

Adsorptionsversuche mit Calciumoxalat.

Eine sehr starke Verschiebung des Dehydrasenverhältnisses unter weit geringerem Verlust an XE wurde durch Ausfällung der in der Molke enthaltenen Ca-Ionen mit Ammonium-oxalat erzielt.

Zur Calcium-Bestimmung wurden 20 ccm Molke im Zentrifugenglas mit 4 ccm 0,62 n-Ammonium-oxalat-Lösung versetzt, nach drei Stunden wurde abzentrifugiert, gewaschen, dann der Niederschlag in verdünnter Salzsäure gelöst und aus dieser Lösung mit 1 ccm 0,62 n-Ammonoxalat und verdünntem Ammoniak das Calcium erneut gefällt. $Ca^{\cdot\cdot}$-Gehalt = 23,5 mg/20 ccm Molke.

Diesen Wert, der auch bei einer anderen Probe festgestellt wurde, legte man den Fällungsversuchen zugrunde. Nach Fällung des Calciums mit der daraus errechneten Menge 0,62 n-Ammonium-oxalat-Lösung wurden in der klaren abzentrifugierten Lösung in 3 Versuchen mit verschiedenem Material folgende Wirkungswerte bestimmt, umgerechnet auf 2 ccm Magermilch, deren Werte in Klammern angegeben sind.

Tabelle 11.

	I	II	III
XE	5,45 (4,75)	1,73 (2,24)	3,80 (4,83)
SaE	0,56 (1,05)	0,18 (0,42)	0,52 (0,80)
XE/SaE . .	9,8 (4,53)	9,9 (5,35)	7,3 (6,0)

Digitized by Google

Das Calciumoxalat hat die Aldehydrase etwa zur Hälfte adsorptiv mitgerissen, während die Xanthin-dehydrase im wesentlichen in der Lösung geblieben ist. So hat sich der Quotient, wenigstens in I und II, auf das Doppelte erhöht.

Versuchte man nun, die Enzyme in der von $Ca^{\cdot\cdot}$ befreiten Lösung durch Anwendung von Tonerde-hydrat weiter zu trennen, so führte dies auch bei $p_H = 4{,}5$ zu keinem Erfolg.

Mit steigender Menge Tonerde sank der Quotient von 9,9 (Molke II) auf 6,8 und 4,2; mit 105 mg $Al(OH)_3$ in der üblichen Versuchsanordnung wurde eine völlig inaktive Restlösung erhalten.

Ebensowenig gelang eine weitere Trennung mit Bleiphosphat, das in der $Ca^{\cdot\cdot}$-freien Molke gefällt wurde.

Dagegen wurde die Abscheidung der Aldehydrase weiter gefördert, als man der Molke von Versuch II die 4 fache Menge ihres $Ca^{\cdot\cdot}$-Gehalts in Gestalt von $CaCl_2$-Lösung zusetzte und nun das gesamte $Ca^{\cdot\cdot}$ mit Ammonium-oxalat ausfällte.

Von dem ausfallenden Calciumoxalat werden gleichzeitig Eiweißkörper aus der Lösung genommen, die sich dabei klärt.

Wir stellen das Ergebnis mit den Werten der Molke und mit denen der von dem eigenen $Ca^{\cdot\cdot}$ befreiten Molke zusammen.

Tabelle 12.

	Molke	Molke nach Ausfg. von 23,5 mg $Ca^{\cdot\cdot}$	Molke nach Ausfg. von 108 mg $Ca^{\cdot\cdot}$
XE	2,24	1,73	1,51
SaE	0,42	0,18	0,10
XE/SaE	5,35	9,9	15

Dies wird der Weg sein, auf dem man voraussichtlich zu aldehydrase-freier Xanthin-dehydrase gelangen kann. Dabei wird man auch von der durch $NaHCO_3$ zu schaffenden Verschiebung (S. 49/50) Gebrauch machen. Mit Pufferlösung $p_H = 8{,}0$ kann die adsorbierte Aldehydrase wieder in Lösung gebracht werden.

Kinetischer Vergleich der beiden Dehydrasen.

In den Versuchen, die in diesem Kapitel behandelt werden, sollen zur Erweiterung der Erkenntnis von der

Digitized by Google

Nichteinheitlichkeit des Milchenzyms die Reaktionsverhältnisse der beiden Fermente miteinander verglichen werden und zwar durch Messung ihrer Wirksamkeit mit der MB-Methode in Abhängigkeit vom p_H und von der Konzentration des Substrats.

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Acidität.

Für die Dehydrierung von Hypoxanthin haben bereits Dixon und Thurlow[1]) die Abhängigkeit der Wirkung vom p_H des Mediums gemessen.

Da wir die Wirkung unserer Präparate zu vergleichen hatten, mußten die Messungen der englischen Autoren zum Teil wiederholt werden, und zwar geschah dies hauptsächlich unter Verwendung von Xanthin. Als Fermentmaterial diente sowohl Milch als auch ein nach der geschilderten Vorschrift bereitetes Material.

Die Temperatur wurde wie bei den bisherigen Bestimmungen bei 37° gehalten. Sie ist nicht die optimale, die bei 60° liegt, aber sie garantiert dem Fermentmaterial für jede Versuchsdauer völlige Haltbarkeit.

Den Temperaturkoeffizienten der Xanthin-dehydrase bestimmten wir zwischen 27° und 32° zu 1,9, im Einklang mit den Angaben von Dixon und Thurlow. Es wurden gefunden:

bei 27,0° 0,65 X E, bei 32,0° 0,96 X E.

Für die Bestimmungen bei verschiedenen p_H, die in Milch und Fermentlösung vorgenommen wurden, wurde die Acidität von 5,0 bis 8,0 mit $^m/_{10}$-Phosphatpuffer, von 8,0 bis 10,0 mit Boratpuffer gleicher Konzentration, darüber hinaus mit sekundärem Natriumphosphat + $^n/_{10}$-NaOH eingestellt. Die Milchmenge war in allen Reihen gleich.

Wir finden das Optimum der Wirkung bei p_H von ungefähr 8—9, aber auch noch bei p_H 12 ist die Wirkung bedeutend.

Die Aldehydrase besitzt nicht die gleiche p_H-Abhängigkeit. Ihr Wirkungsoptimum befindet sich im schwächer alkalischen Gebiet, bei $p_H = 8{,}0$ und ist schon bei $p_H = 11{,}0$ auf $^1/_3$ gefallen. Aber noch charakteristischer ist der Unter-

[1]) Bio. Jl. 18, 976 (1924).

Digitized by Google

schied bei niedrigerem p_H. Unterhalb 7,6 verliert die Xanthin-dehydrase stark an Aktivität, während die Aldehydrase eine viel geringere Einbuße daran erleidet.

Wir führen die gemessenen Werte, die nur orientierenden Charakter haben, tabellarisch auf. Es sind 4 Proben von Milch a, b, c, d untersucht worden.

p_H	5,9	6,5	7,1	7,6	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,3	11,0	11,8	12,0	13,7
X E a	0,32	0,48	0,82	1,06	1,37	2,12	2,70	—	—	—	—	—	—	—
„ b	—	—	—	—	1,14	1,46	3,57	5,40	6,40	—	—	—	—	—
„ c	—	—	—	0,83	0,84	—	2,00	—	2,70	2,94	3,57	2,95	1,78	1,35
„ d	—	—	—	—	3,03	—	5,50	—	5,50	4,50	1,25	—	—	—
Sa X a	1,28	1,43	1,67	1,73	1,85	2,00	1,67	—	—	—	—	—	—	—
„ b	—	—	—	—	1,38	1,43	1,70	1,19	0,98	—	—	—	—	—
„ c	—	—	—	1,47	1,72	—	0,82	—	—	0,64	0,56	—	—	—

Die Versuche mit Enzympräparat zeigen eine ganz analoge Abhängigkeit. Vgl. die Kurve (Fig. 4).

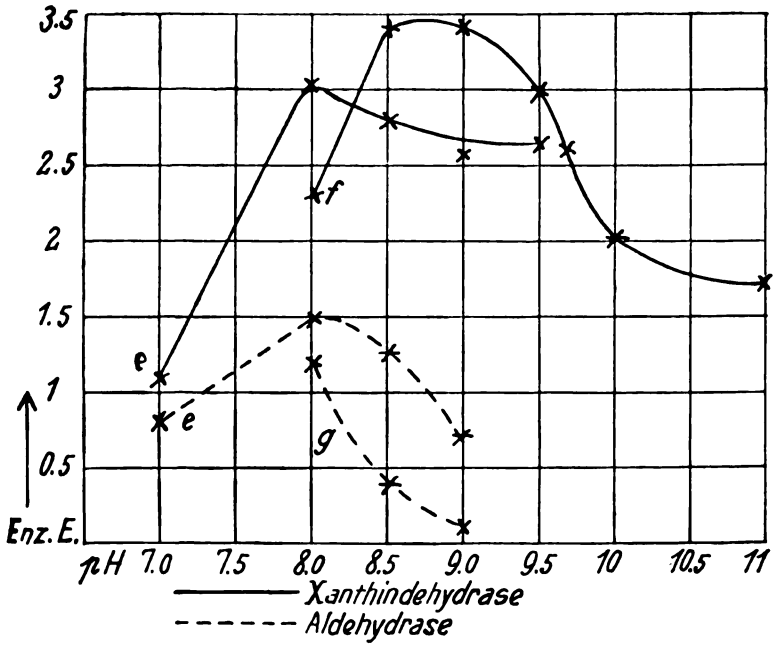


Fig. 4. Abhängigkeit der Enzymwirkung vom p_H gegenüber MB.

Digitized by Google

Sie sind mit je 1 ccm 1-proc. Enzymlösung, 1 ccm $^{n}/_{1000}$-MB, 0,2 ccm $^{m}/_{100}$-Xanthin und 1,8 ccm des entspr. $^{m}/_{10}$-Puffers ausgeführt.

p_H	7,0	8,0	9,5	9,0	9,2	9,5	9,7	10,0	11,0
X E e . . .	1,18	3,03	2,78	2,57	—	2,63	—	—	—
„ f . . .	—	2,30	3,40	3,40	3,0	—	2,6	2,0	1,7
Sa E e . . .	0,77	1,47	1,25	0,71	—	—	—	—	—
„ g . .	—	1,22	0,39	0,10	—	—	—	—	—

Auch die p_H-Abhängigkeit bei der Dehydrierung mit Sauerstoff liegt, wenigstens für Xanthin, in derselben Richtung. Für Aldehyd liegen noch keine endgültigen Resultate vor.

Je 2 ccm Enzymlösung und zwar derselben, die oben für die MB-Reaktion gedient hatte, 2 ccm $^{m}/_{100}$-Xanthin, 2 ccm der entspr. Pufferlösung. p_H von 7,0—9,5, wie auf dem Kurvenbild (Fig. 5) angegeben.

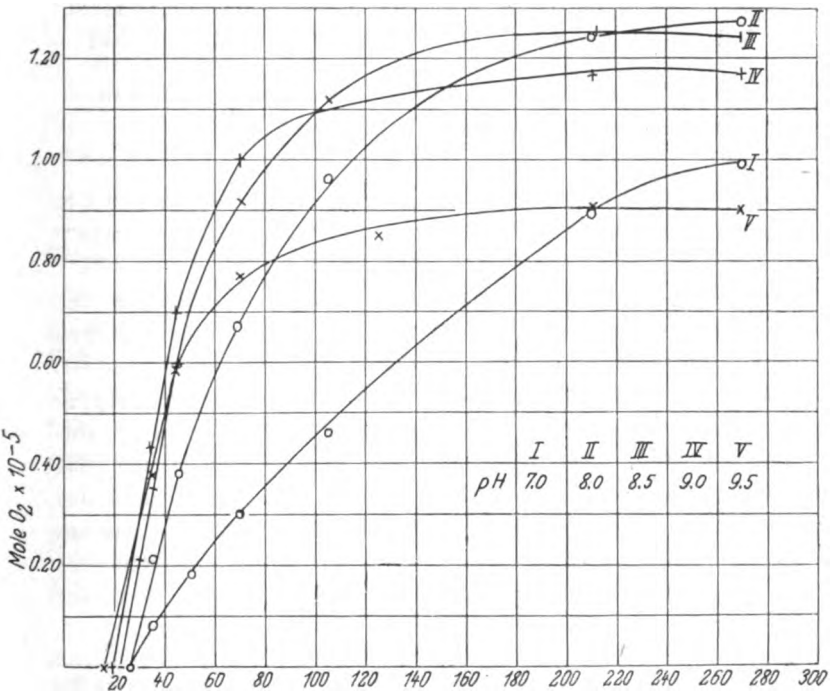


Fig. 5. p_H-Abhängigkeit der oxydativen Xanthin-Dehydrierung.

Digitized by Google

Die *Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration an Hypoxanthin und Xanthin* ist ebenfalls von Dixon und Thurlow bestimmt. Die Angabe, daß bei sehr kleinen Konzentrationen, die der stöchiometrischen nahe liegen, die stärkste Wirkung erreicht wird, können wir vollauf bestätigen. Die beiden Purinkörper besitzen eine ungemein große Affinität zum Enzym. Dieser Umstand erklärt auch, warum eine Steigerung der Konzentration einen Abfall der Reaktionsgeschwindigkeit nach sich zieht. Die bevorzugte Adsorption des Substrats verwehrt dem Farbstoff den Zutritt zur aktiven Oberfläche (D. u. Th.).

Das Ergebnis unserer Messungen an Trockenferment aus Rahm wird in Gestalt einiger Tabellen verzeichnet:

$p_H = 8{,}0$. $T = 37°$. Gesamtvolum 8 ccm.

1. Bestimmung mit wechselnden Mengen Xanthin.

Mole Xanthin	1×10^{-6}	2×10^{-6}	4×10^{-6}	8×10^{-6}	$1{,}6\times10^{-5}$	$3{,}2\times10^{-5}$	$6{,}4\times10^{-5}$
X E	2,27	2,17	1,72	1,39	0,83	0,63	0,61

2. Steigende Mengen Hypoxanthin. Präparat von 1,58 X E.

Mole Hypoxanthin	$0{,}5\times10^{-6}$	1×10^{-6}	2×10^{-6}
X E	1,67	1,08	0,69

3. Steigende Mengen von Hypoxanthin. Präparat von 2,60 X E.

Mole Hypoxanthin	$0{,}5\times10^{-6}$	1×10^{-6}	2×10^{-6}	5×10^{-6}	10×10^{-6}
X E	3,33	3,33	2,94	1,92	1,85

Man sieht (vgl. auch Fig. 6), daß die Erhöhung der optimalen Substrat-Konzentrationen, von denen ausgegangen wird, mit einem Rückgang der Aktivität verbunden ist. Besonders anschaulich zeigen die beiden Reihen mit Hypoxanthin, wie scharf Ferment und Substrat aufeinander eingestellt sind. Die Konzentration 1×10^{-6} liegt für das weniger wirksame Präparat von 2. schon außerhalb des optimalen Gebiets, während sie sich für das wirksamere von 3. noch innerhalb desselben befindet. Bemerkenswert ist, daß sich das Enzym gegenüber Hypoxanthin in dieser Hinsicht empfindlicher zeigt als gegenüber Xanthin.

In wesentlich anderer Weise ist die enzymatische *Aldehyd-Dehydrierung* von der *Konzentration des Substrats* ab-

Digitized by Google

hängig. Die Beobachtung von Dixon und Thurlow[1]), daß beim Acetaldehyd die Entfärbungszeit dessen Konzentration umgekehrt proportional sei, daß also der Umsatz der Konzentration direkt proportional verlaufe, trifft nur für einen be-

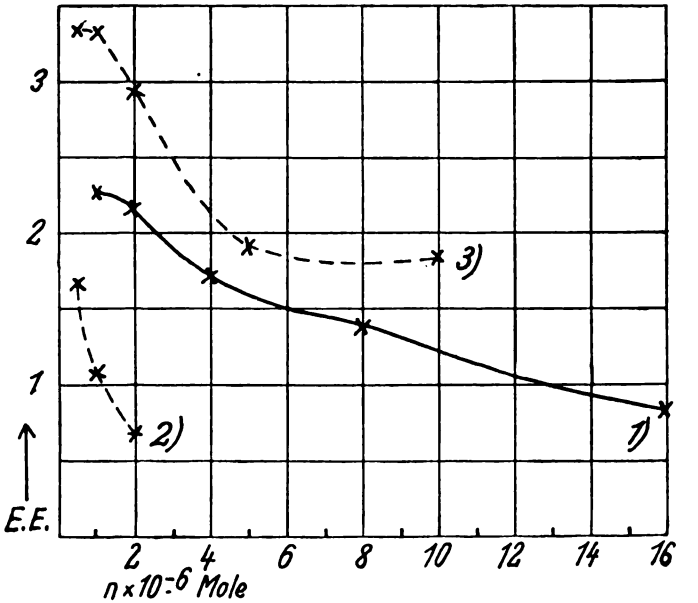


Fig. 6. Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Konzentration an Xanthin (1) und Hypoxanthin (2, 3).

grenzten Konzentrationsbereich zu. Aus der Tabelle ergibt sich, daß auch hier ein Optimum auftritt. Auch die meisten anderen Aldehyde, die gegenüber dem gleichen Fermentpräparat, wie immer bei $p_H = 8{,}0$, auf ihre Entfärbungszeit gemessen wurden, zeigen dieses Verhalten.

1. *Formaldehyd.*

Die Lösung ist an Aldehyd molar . .	0,005	0,010	0,025	0,050	0,125	0,150
XE	0,28	0,42	1,25	2,38	0,81	0

2. *Acetaldehyd.*

Molarität der Lsg. .	0,002	0,004	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,35
AE	0,3	0,57	1,25	1,92	4,17	3,83	2,38	0,4

[1]) Bio. Jl. 18, 986 (1924).

Digitized by Google

3. *Acrolein.*

Molarität	0,003	0,015	0,045	0,075	0,15
AE	0,066	0,31	0,31	0,74	1,03

4. *n-Butyraldehyd.*

Molarität	0,033	0,066	0,10	0,13	0,24
AE	0,083	0,154	0,24	0,30	0,60

5. *Chloral-hydrat.*

Molarität	0,04	0,10	0,20
AE	0,044	0,019	0,017

6. *Benzaldehyd.*

Molarität	0,0012	0,003	0,006	0,01
AE	0,62	1,05	1,49	1,0

7. *Salicylaldehyd.*

Molarität	0,0008	0,002	0,004	0,006	0,007
AE	0,96	0,99	0,92	0,85	0,66

Bis zur Erreichung der optimalen Konzentration besteht bei 1—5 einigermaßen Proportionalität zwischen Konzentration und Reaktionsgeschwindigkeit, die hier wie überall durch die Enzymaktivität in AE ausgedrückt ist. Beim Acrolein und Butyraldehyd — hier setzt die Löslichkeit eine Grenze — ist dieser Punkt noch nicht erreicht. Die aromatischen Aldehyde, deren Moleküle mit einer größeren Affinität zur Enzymoberfläche ausgestattet erscheinen, nähern sich den Purinkörpern. Auch bei ihnen wird bei verhältnismäßig niederer Konzentration bereits die Wirksamkeitsgrenze erreicht und die Hemmung nach deren Überschreitung wird wohl eine analoge Ursache haben, wie sie Dixon und Thurlow im Falle der Purine erörtern. Dieser größeren Affinität der aromatischen Aldehyde entspricht ihre gegenüber den aliphatischen Aldehyden erhöhte Wirksamkeit als Substrate der Dehydrierung. Wenn wir die Wirksamkeit von Formaldehyd und Acetaldehyd durch Interpolation auf die der geprüften Anfangskonzentration von Salicylaldehyd (0,0008-mol.) umrechnen, so erscheint Salicylaldehyd dem Formaldehyd um das 20fache, dem Acetaldehyd um das 8fache überlegen.

Digitized by Google

Der große Unterschied in den optimalen Konzentrationen prägt sich in den beiden Schaubildern (Figg. 7 u. 8) aus. Die Konzentrationen von $^{m}/_{1000}$—$^{m}/_{100}$, innerhalb derer das Optimum für die aro-

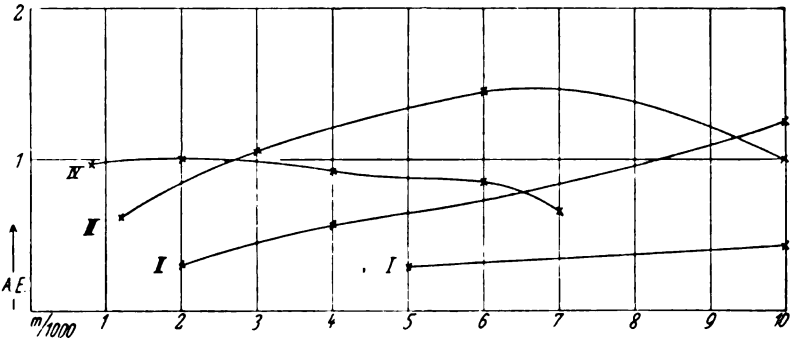


Fig. 7. Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Konzentration an Aldehyd A. I. Formaldehyd, II. Acetaldehyd, III. Benzaldehyd, IV. Salicylaldehyd.

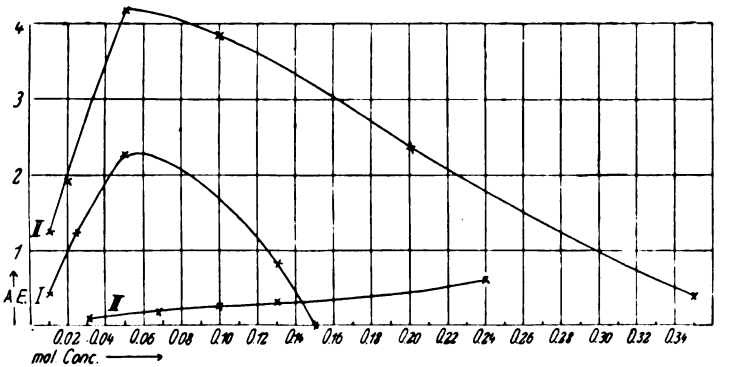


Fig. 8. Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Konzentration an Aldehyd. B. I. Formaldehyd, II. Acetaldehyd, III. n-Butyraldehyd.

matischen Aldehyde liegt, sind auf Fig. 7 wiedergegeben. Fig. 8 enthält — in stark verkleinerten Maßstab bzgl. der Konzentrationsänderung — die Fortsetzung der Kurven für Formaldehyd (I) und Acetaldehyd (II).

Bach hat in einer früheren Arbeit[1]) bei Anwendung von *Nitrat* als Wasserstoffacceptor die verschiedenen Alde-

[1]) C. r. **164**, 248 (1917)

Digitized by Google

hyde im Verhältnis zueinander ähnlich wirksam gefunden, wie wir hier mit MB.

Der Inhalt dieses Kapitels beschreibt lediglich die Dynamik der Aldehydrasenwirkung. Für die Frage der Einheitlichkeit oder Nichteinheitlichkeit des Milchenzyms liefert er keinen weiteren Beitrag, da die zwischen Xanthin- und Aldehyd-dehydrase festgestellten Unterschiede naturgemäß ebensogut bei einem einheitlichen Enzym angetroffen werden könnten.

Die Dehydrierung durch Sauerstoff.

Bereits vor 15 Jahren hat der eine von uns in der zu Anfang erwähnten Abhandlung ausgeführt, daß das enzymatische System der Milch Aldehyd bei Gegenwart von molekularem Sauerstoff zu oxydieren vermag, daß aber gleichzeitig das Ferment durch Sauerstoff geschädigt wird. Morgan, Stewart und Hopkins[1]) haben 7 Jahre später gefunden, daß bei Gegenwart von Xanthin oder Hypoxanthin an Stelle von Aldehyd Methylenblau wie auch Sauerstoff und zwar im äquivalenten Verhältnis als Wasserstoffacceptoren fungieren. Im Verlauf des ausführlichen Studiums des durch ihn zugänglich gemachten Enzympräparates hat dann M. Dixon[2]) an ihm auch in der Reaktion mit den Purinkörpern die schädigende Wirkung des Sauerstoffs festgestellt. Es könnte scheinen, daß durch dieses übereinstimmende Verhalten ein Hinweis auf die Einheitlichkeit der Milch-dehydrase gegeben sei.

Wir haben zuerst geprüft, ob die Schädigung des Ferments durch die Berührung mit Sauerstoff allein herbeigeführt wird, eine Vermutung, die deshalb nicht sehr wahrscheinlich ist, weil weder Milch noch die von uns dargestellten Enzympräparate auch bei längerem Aufbewahren — wenigstens bei Raumtemperatur — eine Einbuße an Wirksamkeit erlitten haben.

Durch eine Enzymlösung von der üblichen Konzentration, die aus Trockenpräparat bereitet war, wurde ungefähr 6 Stunden lang

[1]) Proc. Roy. Soc. **94**, 109 (1922).
[2]) Bio. Jl. **19**, 507 (1926).

Digitized by Google

unter Toluolschutz ein durch Watte filtrierter Luftstrom hindurchgesaugt. Parallel lief ein Ansatz gleicher Art, der von reinem Stickstoff durchströmt wurde. Von Zeit zu Zeit wurde der Enzymgehalt in der üblichen Weise in beiden Lösungen gemessen. Die Messung erfolgte in beiden Fällen gegenüber Xanthin und Salicylaldehyd als Wasserstoffdonatoren.

Zeit (Min.)	0	30	150	180	210	265	290	315	340	Durchschnittswerte
X E in Luft	8,62	—	7,50	—	7,80	—	8,64	—	7,90	7,96
X E in N_2	—	9,00	—	7,15	—	8,07	—	8,07	—	8,07
Sa E in Luft	1,77	—	1,87	—	—	—	1,98	—	2,40	2,08
Sa E in N_2	—	2,24	—	2,25	—	2,72	—	2,22	—	2,38

Bei der Xanthin-dehydrase ist keine Schwächung der Aktivität eingetreten, während sich die der Aldehydrase sogar etwas erhöht hat. Dies mag auf einen Versuchsfehler oder auf eine Änderung des Dispersitätsgrades des Enzyms in der Lösung zurückzuführen sein. Jedenfalls steht fest, daß keines der beiden Fermente durch Sauerstoff allein eine beachtbare Beeinträchtigung seiner Wirksamkeit erfährt.

Diese Versuche sind bei Raumtemperatur (etwa 20°) vorgenommen. Wir haben uns aber bei den sich anschließenden O_2-Absorptionsmessungen bei 37° überzeugt, daß Ansätze, die nur Ferment und Puffer enthielten, nach Abschluß der Versuche die zu Beginn vorhandenen Enzymeinheiten (gegenüber MB) noch voll enthielten.

Bei der viel höheren Temperatur von 60° wurde in der älteren Arbeit ein Wirksamkeitsverlust beobachtet.

Man muß aus diesen Feststellungen den Schluß ziehen, daß die Schädigung unter den hier angewandten Bedingungen ausschließlich bei der Tätigkeit des Ferments vor sich geht. Dixon hat die Schädigung des Enzyms durch Sauerstoff in seiner Funktion als Xanthin-dehydrase messend verfolgt und hat auch gezeigt, daß mit dem Absinken des Aufnahmevermögens von Sauerstoff die Aktivität gegenüber Methylenblau gleichen Schritt hält. Von dem einen von

Digitized by Google

uns ist in gleicher Weise schon in der früheren Arbeit über das Milchferment nachgewiesen worden, daß mit seiner Inaktivierung gegen Sauerstoff diejenige gegen Methylenblau verknüpft ist. Damit ist für die beiden Leistungen einer der hauptsächlichen Beweise erbracht, daß die beiden Wasserstoffacceptoren Bestandteile eines und desselben enzymatischen Reaktionssystems sind.

Versuche mit Xanthin.

Die folgende Versuchsreihe kennzeichnet noch einmal in aller Schärfe die Tatsache, daß das Enzym nur im Maße seiner dehydrierenden Leistung zerstört wird.

In der Barcroftapparatur wurden in 8 Ansätzen gleiche Teile derselben Fermentlösung mit abgestuften Mengen Xanthin bis zur Aufnahme der berechneten Menge O_2 bei 37° unter Sauerstoff geschüttelt. Dann wurden die Lösungen nach der MB-Methode auf die noch vorhandene Wirksamkeit geprüft.

ccm $^m/_{100}$-Xanthin . . .	0	0,2	0,5	1,0
X E nach dem Versuch .	1,85	1,56	0,91	0

Setzt man bei der O_2-Absorption den Lösungen geringe Mengen *Katalase* zu, so kommt es, wie Dixon beobachtet hat, nicht zu einer Schädigung des Enzyms. Dadurch ist ihre Ursache auf das gemäß der Dehydrierungstheorie als primäres Produkt der Sauerstoffhydrierung zu erwartende *Hydroperoxyd* zurückgeführt. Die enorme Wirkung dieses Stoffes in sehr geringer Konzentration — es handelt sich hier um $^m/_{2000}$-Lösungen — ist für die Biologie der Oxydationsvorgänge von allergrößter Bedeutung, gleichzeitig beleuchtet die wichtige Entdeckung von Dixon mit aller Schärfe die Funktion der Katalase als Schutzferment. Vgl. dazu S. 74.

Im Hinblick auf den Vergleich der beiden Enzymwirkungen war es notwendig, die Schädigung durch Hydroperoxyd in Abhängigkeit von dessen Konzentration quantitativ zu bestimmen.

Man ermittelte die Entfärbungszeit verschiedener Ansätze, die jeweils 1 ccm Enzymlösung mit 3,57 X E, 1 ccm $^n/_{1000}$-MB, 0,2 ccm $^m/_{100}$-Xanthin enthielten und mit Pufferlösung $p_H = 8{,}0$ und wechselnden

Digitized by Google

Mengen $^n/_{1000}$-H_2O_2-Lösung auf ein Gesamtvolumen von 5 ccm gebracht waren. $t = 37°$. Die Tabelle gibt an, in welchem Maße die Enzymwirkung durch das zugefügte Hydroperoxyd vermindert wird.

Die Molarität der Lösungen für Xanthin war 4×10^{-4}, für MB 1×10^{-4}.

H_2O_2 n × 10^{-4} mol.	0	0,05	0,10	0,20	0,40	1,00	2,00	5,0	7,5
XE	3,57	3,26	3,13	2,94	2,73	1,61	(1,61)	0,0	0
XE ber.	—	—	3,37	3,21	2,85	1,78	1,19	0,6	—

Diese Prüfungsmethode leidet an dem Nachteil, daß das Hydroperoxyd von dem gebildeten Leuko-MB verbraucht wird. Die dadurch herbeigeführte Rückbildung des Farbstoffs bedingt eine Verlängerung der Entfärbungszeit, die in den in der dritten Horizontale der Tabelle unter „XE ber." angeführten Aktivitäten ausgedrückt ist. In diesem Sinne verläuft die Reaktion, bis die Konzentration des Hydroperoxyds auf 2×10^{-4} gekommen ist. Bis dahin ist eine Hemmung durch diesen Zusatz nicht zu erkennen. Der Ansatz mit 5×10^{-4} mol. H_2O_2 wurde nicht mehr entfärbt, auch nicht nach 12 Stunden auf erneuten Xanthin-Zusatz. Damit ist gezeigt, daß das Enzym bei einer Konzentration von beiläufig 5×10^{-4} mol. Hydroperoxyd seine Wirksamkeit verloren hat. Dies stimmt recht gut mit den Befunden der Inaktivierung durch Sauerstoff, die oben angeführt sind, überein und deckt sich auch mit den Ergebnissen von Bernheim und Dixon[1]), die sich mit derselben Frage beschäftigt haben und die die schädigende H_2O_2-Konzen- zwischen 10^{-4} und 10^{-3} molar H_2O_2 finden.

O_2-Absorptionsmessungen bei Gegenwart von Salicylaldehyd.

Die Messungen wurden in der im hiesigen Laboratorium gewöhnlich benutzten Barcroft-Warburgschen Apparatur bei 37° vorgenommen. Man hielt dieselben Bedingungen ein, wie sie für die Entfärbungsversuche gelten. Nur mußte die Aldehyd-Konzentration erhöht werden, weil sonst zu kleine Ausschläge erhalten worden wären. Dadurch leidet gemäß den für die MB-Reaktion gemachten Feststellungen (S. 58) die Aktivität des Enzyms. Aber da im

[1]) Bio. Jl. 22, 120 (1928).

Digitized by Google

jetzigen Zusammenhang die Reaktionsgeschwindigkeit nicht von Belang ist, sondern nur der absolute Umsatz im Reaktionssystem zu ermitteln war, so spielt jener Nachteil keine Rolle.

1. *Versuche mit Milch.*

Es kamen 7 Milchproben (I—VII) in wechselnden Mengen zur Anwendung, mit durchschnittlich 0,75 Sa E/ccm. Die Aldehyd-Konzentration variierte innerhalb der verzeichneten Grenzen, zwischen 2 und 4×10^{-5} mol.

Tabelle 13.

	I	II	III	IV	V	VI	VII
ccm Milch	5	4	4	2	4	4	4
ccm $^m/_{50}$-Salicylaldehyd .	1,5	2,0	2,0	2,0	1,5	1,0	2,0
cmm O_2	134	210	201	139	134	127	195
in Proc. oxyd. Aldehyds	40	47	45	31	40	57	44

Im Mittel sind **43** Proc. des eingesetzten Aldehyds durch Sauerstoff dehydriert worden. Die älteren Versuche des einen von uns[1]), bei denen die unter Sauerstoff und unter Stickstoff gebildete Salicylsäure bestimmt wurde, haben die jetzigen, genaueren Resultate voraussehen lassen. Wie damals, so wurde auch jetzt festgestellt, daß in allen Ansätzen, nachdem die O_2-Aufnahme zum Stillstand gekommen war, trotz noch vorhandenen Aldehyds MB nicht mehr entfärbt wurde.

2. *Versuche mit Enzympräparat.*

Das Präparat war aus Rahm dargestellt und von Casein weitgehend befreit, seine Aktivität was etwa die 100fache wie die von Milch (1 mg = 0,5 Sa E). Je 3 ccm seiner Lösung (enthaltend je 6 mg Trockenpräparat = 3 Sa E) wurden mit 2,0 ccm $^m/_{50}$-Salicylaldehyd und 1 ccm $^m/_5$-Phosphatpuffer $p_H = 8{,}0$ bei 37° unter Luft geschüttelt. Nach 80 Minuten war die Absorption beendet; sie betrug 54 und 45 cmm.

Der Umsatz gegenüber dem eingesetzten Aldehyd beträgt **12,0** und **10** Proc., im Verhältnis zu den Versuchen mit Milch, von denen II, III und VII genau vergleichbar sind, etwas mehr als $^1/_4$. Der zeitliche Verlauf der Sauerstoffaufnahmen ist aus Fig. 9 abzulesen, auf der die An-

[1]) B. **47**, 2099 (1915).

Digitized by Google

sätze II, IV und VI mit Milch und ein Versuch mit dem Enzympräparat wiedergegeben sind.

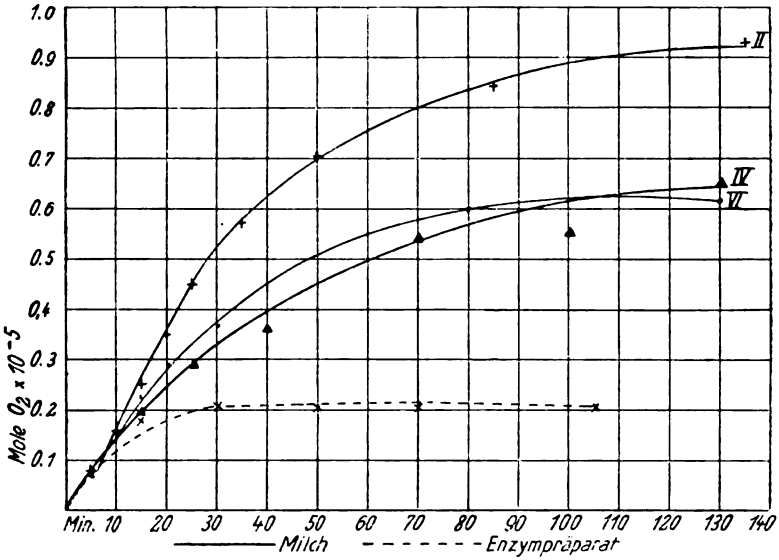


Fig. 9. Oxydative Dehydrierung von Salicylaldehyd.

Auch hier sind die Endlösungen nicht mehr zur Entfärbung von MB befähigt. Die Schädigung, die das aus der Milch isolierte Enzym erleidet, ist also bedeutend größer als in seinem ursprünglichen Medium, was auf dem Kurvenbild besonders deutlich wird. Sie übertrifft auch bei weitem diejenige, die Dixon und auch wir bei Anwendung von Xanthin an Stelle von Aldehyd festgestellt haben, und wir sehen darin eine wichtige Stütze für unsere Auffassung von der Zweiheit des Schardinger-Enzyms.

Wir halten es für durchaus möglich, daß ein noch weiter gereinigtes Enzym durch Sauerstoff bis zur praktisch völligen Reaktionslosigkeit geschädigt wird. Aus der Tatsache, daß auch in dem gereinigten Ferment mit der Fähigkeit Sauerstoff zu übertragen diejenige zur Entfärbung von MB verloren geht, ziehen wir den Schluß, daß auch im Fermentpräparat die beiden Funktionen derselben Einheit

Digitized by Google

zugehören, daß das, was man früher als „Reduktase" und „Oxydase" bezeichnet hat, ein und dasselbe Ferment ist. Diesen Schluß hat für das in der Milch enthaltene Enzym auf Grund einer gleichartigen Beweisführung der eine von uns bereits vor 15 Jahren gezogen. Wenn Bach und Nikolajew glauben, durch ihre schon erwähnte Untersuchung diesen Schluß widerlegt zu haben, so befinden sie sich im Irrtum. An der Richtigkeit der Versuche, die sie für entscheidend halten, ist nichts zu beanstanden, jedoch an den Folgerungen, die sie daraus ziehen.

Die russischen Autoren finden, daß ihr Enzympräparat (das möglicherweise wirksamer war als das unsrige), bei Gegenwart von Salicylaldehyd in Wasserstoff mehr Salicylsäure liefert als in Sauerstoff. Sie nehmen an, daß in beiden Fällen die Salicylsäure das Produkt einer Cannizzaroschen Disproportionierung, der Mutasewirkung sei, die ebenfalls schon vor 15 Jahren von Wieland in der Milch festgestellt und als der gleichen Fermenteinheit zugehörig erkannt worden ist. In Wirklichkeit stammt die bei Gegenwart von O_2 gebildete Säure in der Hauptsache aus der oxydativen Dehydrierung des Aldehyds, zu einem kleinen Teil aus der Dismutierung. Die sehr rasche Zerstörung des Ferments durch den Sauerstoff, die gleichzeitig der Dismutierung ein Ziel setzt, ist die Ursache dafür, daß Bach und Nikolajew in ihren O_2-freien Versuchen, in denen die Cannizzarosche Reaktion weiterläuft, mehr als den doppelten Betrag an Säure erhalten als bei Gegenwart von Luft. Daß der Unterschied in den gebildeten Säuremengen nicht noch größer ist, liegt offenbar daran, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der oxydativen Dehydrierung bedeutend größer ist als die der Dismutierungsreaktion. Ganz analog liegen die Verhältnisse beim Ferment der Essigsäuregärung.[1])

Bach und Nikolajew führen den Unterschied in der Reaktionsweise zwischen Milch und gereinigtem Ferment gegenüber Aldehyd und Sauerstoff auf einen unbekannten

[1]) Wieland u. Bertho, A. 467, 144 (1928).

Digitized by Google

Begleitstoff der Milch zurück, der, ähnlich dem MB die Fähigkeit habe, als Wasserstoffacceptor zu dienen und als Hydroverbindung durch Sauerstoff sofort wieder reoxydiert zu werden. Dieser Stoff werde durch die Reinigung entfernt. Wir halten diese an sich beachtenswerte Annahme nicht für wahrscheinlich, weil sie den Zusammenhang der O_2-Reaktion mit der MB-Reaktion nicht erklären kann. Sie läßt auch jede Analogie mit der Reaktion der Purine vermissen, die doch dem Wesen nach gleichartig verläuft.

Die Versuche, nachzuweisen, daß die O_2-Schädigung der Aldehydrase auch auf das primär gebildete Hydroperoxyd zurückzuführen ist, sind noch nicht abgeschlossen. Wir können bis jetzt über ihre Ursache nichts aussagen. Die größere Stabilität des Enzyms in der Milch gegenüber der des isolierten Präparats führen wir auf die durch das Casein oder einen anderen Bestandteil der Milch ausgeübte Schutzwirkung zurück. Es sind, namentlich durch die Arbeiten der Willstätterschen Schule, vielfach Beispiele bekannt geworden, in denen die Reinigung eines Enzyms, seine Abtrennung von inaktiven Trägern, mit einer Zunahme seiner Labilität verbunden ist. Für diese von uns angenommene Schutzwirkung liefern die folgenden Versuche noch einen Beitrag.

Entfernt man das Casein der Milch mit Lab, so finden sich 90 Proc. der Aldehydrase in der Molke, 10 Proc. im Casein. Prüft man beide Bestandteile auf ihre Fähigkeit, Salicylaldehyd mit Sauerstoff zu dehydrieren unter gleichzeitiger Beachtung ihrer Reaktionsempfindlichkeit, so findet man, daß die Molke von einer bestimmten Aldehydmenge 26 Proc. dehydriert, um dann auch gegen MB inaktiv zu werden. Das Casein dagegen setzte, in einer Menge von gleichviel SaE wie vorher die Molke, in einem Fall 87,5 Proc., in einem anderen 68,5 Proc. Aldehyd um.

Milch von 37° wurde durch Lab zum Gerinnen gebracht, dann wurde aufgerührt und zentrifugiert. Je 5 ccm Molke + Puffer p_H 7,6 und 1,5 ccm $^m/_{50}$-Salicylaldehydlösung wurden bei 37° unter O_2 geschüttelt (2 Ansätze).

Aufgen. O_2 cmm	87
Entspr. % Säure	26

Digitized by Google

Ein Teil des Caseins wurde in 5 ccm Puffer suspendiert und nach Zusatz von 1,5 ccm $^m/_{50}$-Salicylaldehydlösung ebenfalls unter O_2 geschüttelt (Versuch A).

Ein anderer Teil wurde dreimal auf der Zentrifuge mit destilliertem Wasser gewaschen, dann in der gleichen Weise geprüft (Versuch B).

	A	B
O_2-Aufnahme	294	229
Entspr. % Säure	87,3	68,0

Die geschilderten Verhältnisse sind auf Fig. 10 veranschaulicht.

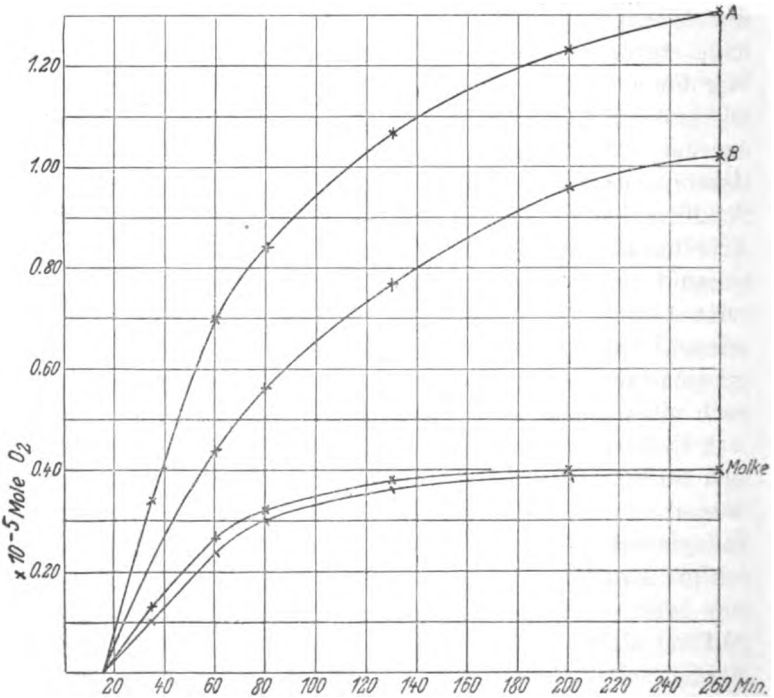


Fig. 10. Oxydative Dehydrierung von Salicylaldehyd in Molke und bei Gegenwart von Casein (A und B).

Über den Mechanismus der oxydativen Purinbasen-Dehydrierung.

Es ist durch die Arbeiten des Cambridger Instituts sehr wahrscheinlich gemacht, daß bei der enzymatischen

Digitized by Google

Autoxydation der Purinverbindungen *Hydroperoxyd* primär entsteht und daß sein Auftreten die Ursache der irreversiblen Hemmung jener Reaktion bildet. Durch vorherigen Zusatz von Katalase wird die Hemmung verhindert und ebenso wirkt das peroxydatische Ferment, das aus Molke gefällt werden kann, indem es den hemmenden Stoff zu rascher Oxydationsleistung aktiviert. Diese Wirkung kann auch, wie Harrison und Thurlow[1]) dargetan haben, auf oxydierbare Substanzen abgelenkt werden, die man der Reaktionslösung zufügt, wie Nitrit, Milchsäure u. a. In diesem Fall kann man die Peroxydase durch Fe^{II}, Hämin und dergl. ersetzen. Schließlich hat Kodama[2]) durch potentiometrische Messung das Auftreten von H_2O_2 wahrscheinlich gemacht. Diese indirekten Nachweise für das primäre Auftreten von Hydroperoxyd, die wir für maßgebend halten, werden, nicht eben sehr kräftig, durch eine direkte analytische Agnoscierung mit Titanschwefelsäure gestützt. Bei den zahlreichen Versuchen, ein Reagens zur scharfen Kennzeichnung geringer H_2O_2-Mengen aufzufinden, stieß der eine von uns (R.) auf ein Mittel, das in ausgezeichneter Weise diesen Zweck zu erfüllen scheint. Es ist das *Cer-(III)-hydroxyd*, das selbst farblos, durch Hydroperoxyd in rotbraunes Cer-(IV)-peroxyd übergeführt wird.[3]) Diese Reaktion erreicht an Empfindlichkeit beinahe die mit Titansulfat, sie erfolgt bei $p_H = 8{,}0$ mit großer Geschwindigkeit, unter Bedingungen, bei denen die Autoxydation von Cerhydroxyd noch nicht eintritt. Dazu kommt, daß das Peroxyd auf die Purinbasen anscheinend ohne jede Wirkung ist, daß es abzentrifugiert und im Gemisch mit $Ce(OH)_3$ analytisch bestimmt werden kann. Wenn wir auch noch keine vollwertigen Belege vorlegen können, so glauben wir doch im Cerhydroxyd ein sehr brauchbares Abfangmittel für Hydroperoxyd angetroffen zu haben, dessen Verwendbarkeit in weiterem Umfang zurzeit im hiesigen Laboratorium geprüft wird.

[1]) Bioch. Jl. **20**, 217 (1926). [2]) Bioch. Jl. **20**, 1095 (1926).
[3]) Cléve, Bl. [2] **43**, 53 (1885); Lecoq de Boisbaudran, C. r. **100**, 605 (1885).

Digitized by Google

Läßt man die Dehydrierung von Hypoxanthin durch Sauerstoff in Gegenwart von Milch oder einer Enzymlösung nach Zugabe eines Überschusses an Cerhydroxyd vor sich gehen, so wird, in beinahe linearem Reaktionsgang die doppelte Menge Sauerstoff aufgenommen, die für die Dehydrierung des eingesetzten Substrats erforderlich ist. Der Prozeß verläuft demnach quantitativ nach der Gleichung, nach der der gesamte Sauerstoff in Hydroperoxyd übergeht:

$$\underset{\text{Hypoxanthin}}{C_5H_4N_4O} + 2O_2 \xrightarrow{+2H_2O} \underset{\text{Harnsäure}}{C_5H_4N_4O_3} + 2H_2O_2$$

Damit ist die ideale Dehydrierungsgleichung realisiert. Das bei der Dehydrierung der Purinbase entstehende Hydroperoxyd wird sofort von dem vorhandenen Cerhydroxyd gebunden und auf diese Weise unschädlich gemacht.

Darstellung des Cer-Reagenzes. Eine 0,042 m-Cer-(III)-sulfat·8 H_2O-Lösung wird mit der erforderlichen Menge Boratpuffer ($p_H = 9{,}24$) auf $p_H = 8{,}0$ gebracht. Dabei fällt ein weißer flockiger Niederschlag aus. Schüttelt man diese Suspension mit verdünntester H_2O_2-Lösung, so färbt sie sich bald gelbbraun bis rotbraun. Gegen Sauerstoff ist das Reagens unempfindlich. Schüttelte man eine Probe davon einige Zeit in einem Zylinder unter Sauerstoff und säuerte dann an, so trat mit Jodkalium und Stärkelösung nur eine ganz schwache Blaufärbung auf. Zudem wurde bei allen zu beschreibenden O_2-Versuchen je ein Kontrollansatz mitgeschüttelt, der einmal die Reagenssuspension, dann das Reagens bei Gegenwart des Ferments und schließlich das Reagens zusammen mit dem Substrat enthielt. In keinem Fall wurde auch nur die geringste Sauerstoffaufnahme beobachtet.

Versuche mit Milch und Enzym aus Rahm. Es wurden je 3,0 ccm Milch mit 6 X E bzw. 3 ccm Enzymlösung von gleicher Aktivität verwendet, dazu kam 1 ccm $^m/_{100}$-Hypoxanthin-Lösung; je ein Ansatz enthielt Cero-hydroxyd, der andere war davon frei.

Tabelle 14.

	A. Milch		B. Enzymlösung	
	I	II	I	II
ccm Boratpuffer p_H 9,24 . . .	0,6	2,6	—	2,0
ccm desgl. 8,0	—	—	4	1
ccm 0,042 m-Cerosulfat . . .	—	1,0	—	1,0
ccm Wasser	3,4	0,4	—	—

Digitized by Google

In der folgenden Zusammenstellung sind die Endwerte der Sauerstoffabsorption aufgeführt.

Tabelle 15.

	A		B	
	I	II	I	II
$\times 10^{-5}$ Mol	1,40	2,14	1,38	2,36

Das Kurvenbild (Fig. 11) zeigt den zeitlichen Verlauf der Reaktion A. Die Sauerstoffmenge überschreitet bei den cerfreien Ansätzen die theoretische Menge von

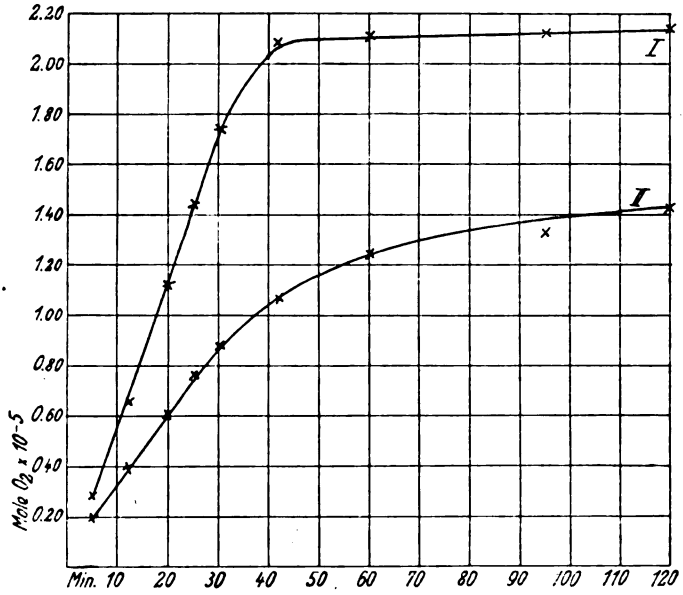


Fig. 11. Autoxydation von Hypoxanthin in Milch. I. Mit $Ce(OH)_3$, II. ohne $Ce(OH)_3$.

1×10^{-5} Molen, die bei völliger Ausnutzung des Sauerstoffs sich berechnet. Die Ursache besteht in der Bildung von Hydroperoxyd, die im folgenden Kapitel noch näher erörtert wird. Warum bei Gegenwart von Cero-hydroxyd der O_2-Verbrauch über das berechnete Maß von 2×10^{-5} Molen

Digitized by Google

gebildeten Hydroperoxyds hinausgeht, können wir nicht sagen, wie überhaupt diese Versuche noch vorläufigen Charakter haben. Es steht uns noch zu wenig Material zur Verfügung. So viel aber ist sicher, daß bei Gegenwart von Cero-hydroxyd erheblich mehr O_2 aufgenommen wird, als ohne diesen Zusatz und daß dieser Mehrverbrauch zum großen Teil auf die Abfangung des primär gebildeten Hydroperoxyds sich zurückführt. Die Ergebnisse sind beim Xanthin analog, jedoch führen wir sie nicht an, weil sie noch nicht befriedigend sind.

Bestimmung des gebildeten Hydroperoxyds. Die Lösung B I wurde nach Beendigung des Versuchs mit Kaliumjodid versetzt und mit Schwefelsäure angesäuert, hierauf wurde das frei gemachte Jod durch Titration mit $^n/_{100}$-Thiosulfatlösung unter Anwendung einer Mikrobürette bestimmt. Aus B II wurde das rotbraune Cerperoxyd abzentrifugiert und nach dem Ansäuern der darin aufgenommene Sauerstoff ebenfalls jodometrisch ermittelt.

B I verbrauchte 0,7 ccm $^n/_{100}$-Thiosulfat, das sind $0{,}35 \times 10^{-5}$ Mole H_2O_2
B II „ 2,35 ccm „ „ „ „ $1{,}17 \times 10^{-5}$ „ H_2O_2

In dem Versuch mit Cero-hydroxyd sind demnach 58,5 Proc. der theoretisch möglichen Menge H_2O_2 gebunden worden. Ebensoviel, also ein Defizit von rund 40 Proc. hat neuerdings Herr Macrae auch mit reinem Cerperoxyd erhalten. Beim Ansäuern des Cer-peroxyds wird nämlich ein Teil des frei gemachten Hydroperoxyds oxydativ zersetzt. Wir haben erst nach Abschluß unserer Versuche von einer Arbeit von R. Schwarz und H. Giese[1]) Kenntnis bekommen, in der dieses Defizit durch volumetrische Bestimmung des mit einem Überschuß von Permanganat und Schwefelsäure aus dem Cer-peroxyd entwickelten Sauerstoffs vermieden wird.

Zur Frage der enzymatischen Dismutierung von Hypoxanthin und Xanthin.

Wie bereits in der Einleitung ausgeführt wurde, wollen Bach und Michlin ebenso wie sie es für die oxydative

[1]) Z. a. Ch. 176, 217 (1928).

Digitized by Google

Dehydrierung der Aldehyde versucht haben, auch den analogen Prozeß bei den Purinbasen dem Prinzip der enzymatischen Dehydrierung unterordnen. Sie geben im Versuchsteil ihrer Abhandlung das Ergebnis von 3 Versuchen wieder, in denen sie bei Gegenwart von isoliertem Schardinger-Enzym Hypoxanthin wie auch Xanthin mit dem gleichen Umsatz in Harnsäure übergeführt zu haben angeben.

1. 80 mg Hypoxanthin gaben mit O_2 10 mg, ohne O_2 11 mg Harnsäure
2. 100 mg „ „ „ O_2 24 mg, „ O_2 26 mg „
2. 15 mg Xanthin gaben mit O_2 1,5 mg, ohne O_2 1,52 mg Harnsäure

Es wären somit in 1. 10 Proc., in 2. 20 Proc., in 3. 11 Proc. des Einsatzes in Harnsäure verwandelt.

Diesen Angaben widersprechen die zahlreichen Befunde der englischen Autoren, die bei ihren quantitativen Absorptionsversuchen stets angenähert die dem angewandten Purinkörper äquivalente Gasmenge feststellten und die auch wir durchaus bestätigen konnten. Um die Rolle des Sauerstoffs vollkommen aufzuklären und den schweren Widerspruch zu beseitigen, den die Arbeit von Bach und Michlin in das vorliegende Forschungsgebiet hineingebracht hat, sind wir daran gegangen, das anzunehmende Reaktionsprodukt der Dehydrierung, die *Harnsäure*, jeweils quantitativ zu bestimmen. Außerdem wurden alle Versuche zur Nachprüfung der Angaben von Bach und Michlin unter analytischer Beachtung etwa entstehender Harnsäure bei Ausschluß von Sauerstoff durchgeführt. Es gelang so, den Vorgang lückenlos aufzuklären.

Zur Bestimmung der Harnsäure nach Folin[1]) wurde nach beendeter Reaktion der Inhalt der Barcroft-Gefäße in ein 25 cm-Meßkölbchen gespült. In 5 ccm dieser Lösung wurde die Harnsäure mit Silberlactat gefällt, das Silberurat wurde mit $^n/_{10}$-HCl in Natriumchloridlösung zersetzt, und in einem aliquoten Teil der so erhaltenen Harnsäurelösung wurde die Harnsäure nach Zusatz von Lithiumsulfat und alkalischer Natriumcyanidlösung[2]) unter Verwendung von Phosphor-

[1]) Vgl. dazu Hoppe-Seyler-Thierfelder, Physiol. u. pathol. chem. Analyse, 1924, S. 704, 842.

[2]) Die Natriumcyanidlösung wird schon durch Kochen mit wenig reinster Tierkohle verwendbar; es ist nicht nötig, gemäß der Vorschrift die Lösung 14 Tage lang stehen zu lassen.

Digitized by Google

wolframsäure im Dubosqschen Apparat unter Gelbfilter colorimetriert. Zum Vergleich diente der blaue Farbton einer mit bekannter Harnsäuremenge eingestellten Lösung. Die Ergebnisse vorangehender Kontrollanalysen waren durchaus befriedigend; die Methode ist scharf.

Versuche mit Sauerstoff.

Wir beschreiben zuerst die Versuche unter Luft mit Xanthin und Hypoxanthin. Dem Vorgang der englischen Biochemiker folgend, haben wir die Sauerstoffaufnahme parallel auch unter Zusatz von *Katalase*[1]) geprüft. Um der Wirkung — wegen der Schüttelempfindlichkeit dieses Enzyms — sicher zu sein, wurde für jeden Ansatz 1 ccm der in der Anmerkung angegebenen Lösung verwendet. Nach Abschluß jedes einzelnen Versuches überzeugte man sich mit einigen Tropfen 3-proc. Hydroperoxyds, daß in den katalasehaltigen Lösungen noch wirksames Ferment enthalten war.

A. *Mit Xanthin.* Die Lösungen enthielten je 3 ccm $^{m}/_{100}$-Xanthin, 3,0 ccm Lösung von Enzym aus Rahm (rund 6 X E), 2,0 ccm Puffer $p_H = 8{,}0$. I. Ohne Katalase, II. mit 1 ccm Katalaselösung. $T = 37°$.

B. Je 2,0 ccm $^{m}/_{100}$-Xanthin, 2,0 ccm einer von A verschiedenen Enzymlösung (rund 6 X E), 2 ccm Puffer wie bei A. $T = 37°$. Zu I und II je 1 ccm Katalaselösung.

Die Lösungen enthalten 2×10^{-5} Mole Xanthin; diesem Gehalt entsprechen 1×10^{-5} Mole O_2. In allen Lösungen wurde nach beendeter O_2-Absorption die Harnsäure bestimmt.

Tabelle 16.

	A		B	
	I	II	I	II
Aufgen. $O_2 \times 10^{-5}$ . .	1,52	1,14	1,09	1,06
% der Theorie	152	114	104	106
mg Harnsäure	2,42	2,45	2,78	3,13
% der Theorie	72	73	83	93

Versuche mit Hypoxanthin. Je 1 ccm $^{m}/_{100}$-Hypoxanthinlösung, die Hälfte vom Xanthin, da hier das Doppelte an

[1]) Das Präparat wurde nach Hennichs [Oppenheimer-Pincussen, Meth. d. Ferm., 1929, S. 1386] dargestellt. Das Trockenpräparat löste sich zu 40 Proc. in Wasser; der Katalasewert dieser Lösung war 1800.

Digitized by Google

O_2 gebraucht wird. Im übrigen waren die Ansätze der beiden Reihen A′ und B′ durchaus gleich denen mit Xanthin. Auch die Enzympräparate waren die gleichen.

Tabelle 17.

	A′		B′	
	I	II	I	II
Aufgen. $O_2 \times 10^{-5}$ . .	1,31	1,00	0,88	1,05
% der Theorie	135	100	88	105
mg Harnsäure	1,085	—	1,55	1,40
% der Theorie	65	—	92	83

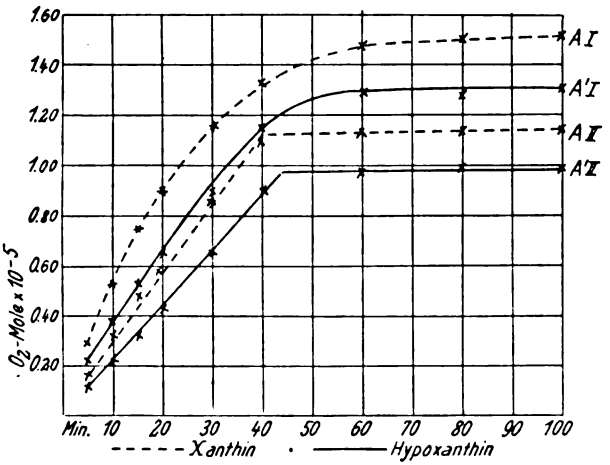


Fig. 12. O_2-Aufnahme ohne (A I, A′ I) und mit Katalase (A II, A′ II).

Wir geben den Verlauf der Sauerstoffaufnahmen in Fig. 12 kurvenmäßig wieder. In beiden Fällen tritt der lineare Charakter (d. h. in gleichen Zeiten besteht gleicher Umsatz) mit aller Deutlichkeit hervor, *da wo die Ansätze Katalase enthalten.* Die Dehydrierungswirkung des Sauerstoffs wird voll ausgenutzt, 1 Mol O_2 dehydriert 2 bzw. 1 Mol der Purinbase. Gleichlaufende Kurven hat auch Dixon erhalten. Aber wir können nicht bestätigen, daß Hypoxanthin rascher reagiert als Xanthin. Das Umgekehrte

Digitized by Google

ist bei uns der Fall. Die große Harnsäuremenge — bei Xanthin im Durchschnitt von 3 Versuchen 83, bei Hypoxanthin in 2 Versuchen 87 Proc. der Theorie —, die gefunden wurde, rechtfertigt die Auffassung, daß die beiden Purine bei störungsfreiem Reaktionsverlauf ausschließlich zu Harnsäure dehydriert werden.

Andere Verhältnisse liegen vor, wenn keine Katalase zugegen ist. Die Krümmung der Kurve deutet den hemmenden Einfluß von Hydroperoxyd an, besonders wichtig ist aber die starke Überschreitung des von der Reaktion geforderten O_2-Bedarfs. Sie macht beim Xanthin 52 Proc., beim Hypoxanthin 35 Proc. der Theorie aus. Es gelingt nun, wie schon oben (S. 71/72) erwähnt, ohne Mühe nachzuweisen, daß ein Teil dieses Mehrverbrauches auf Rechnung von noch vorhandenem *Hydroperoxyd* zu setzen ist. Wir konnten dort in einem Versuch, der mit demselben Enzym genau wie A'I mit einer O_2-Aufnahme von $1{,}38 \times 10^{-5}$ Molen durchgeführt wurde, am Ende der Reaktion $0{,}35 \times 10^{-5}$ Mol H_2O_2 titrimetrisch feststellen. Daß hier der direkte H_2O_2-Nachweis so leicht gelingt, während er bei den englischen Autoren nicht mit voller Schärfe erbracht werden konnte, hängt wohl damit zusammen, daß wir höhere Enzym-Konzentrationen verwandt haben.

Es ist nun zuerst die Frage nach der bilanzmäßigen Verwendung des Sauerstoffs zu erörtern.

Wir dürfen voraussetzen, daß kein Hydroperoxyd durch Katalasewirkung zersetzt wurde, und daß das Hypoxanthin vollständig zur Stufe der Harnsäure dehydriert worden ist. Dann sind 2×10^{-5} Mol H_2 zu binden. Davon hat das bestimmte Hydroperoxyd $0{,}35 \times 10^{-5}$ Mole aufgenommen, der Rest von $1{,}65 \times 10^{-5}$ Molen H_2 wird durch $0{,}825 \times 10^{-5}$ Mole gedeckt. Es sind im ganzen $1{,}38 \times 10^{-5}$ Mole O_2 aufgenommen, nach Abzug des als H_2O_2 bestimmten Anteils bleiben also $1{,}03 \times 10^{-5}$ Mole übrig, von denen nur die errechneten $0{,}825 \times 10^{-5}$ für Hypoxanthin Verwendung gefunden haben.

Die Differenz von $0{,}205 \times 10^{-5}$ Molen O_2 ($= 0{,}41 \times 10^{-5}$ Mol H_2O_2) muß daher für eine andere Oxydation verwendet worden sein. Sie entspricht der Größenordnung nach ziemlich gut dem Minus an Harnsäure, das in den katalasefreien Versuchen gefunden wird. Wir halten es deshalb für sehr wohl

Digitized by Google

möglich, daß mit der Dehydrierung von Xanthin und Hypoxanthin der oxydative Abbau von Harnsäure wenigstens in gewissem Umfang Hand in Hand geht, was von erheblicher biologischer Bedeutung wäre.

In einem Versuch mit Xanthin entsprach die titrierte H_2O_2-Menge 0,65 ccm $^n/_{100}$-Thiosulfat, das sind $0{,}325 \times 10^{-5}$ Mole H_2O_2.

Stellen wir dem Ferment unter im übrigen gleichen Bedingungen an Stelle der sauerstoffärmeren Purine *Harnsäure* gegenüber, so findet nicht die geringste O_2-Aufnahme statt und der gesamte Einsatz wird ohne Verlust wiedergefunden.

2 Ansätze wie die unter B auf S. 74 (mit Katalase); statt Xanthin bzw. Hypoxanthin je 1 ccm $^m/_{100}$-Harnsäure.

Tabelle 18.

	I	II
O_2-Aufnahme . . .	0	0
mg Harnsäure . . .	1,68	1,79
In Proc.	100	106

Versuche unter Stickstoff.

1. *Xanthin.* Ansatz wie bei A I auf S. 74 (ohne Katalase), gleiche Fermentlösung wie dort. Die Reaktionslösung wurde unter reinstem Stickstoff 150 Minuten lang bei 37° gehalten.

2. *Hypoxanthin.* Genau so behandelt wie 1. Ansatz entspricht B I (ohne Katalase); die Enzymlösung ist dieselbe wie dort. Versuchsdauer 100 Minuten.

Der colorimetrische Harnsäurenachweis war in beiden Versuchen *vollkommen negativ.* Es waren nicht einmal Spuren davon entstanden.

Die Versuche zeigen, daß Xanthin und Hypoxanthin einer dismutativen Umwandlung, bei der Harnsäure entsteht, durch das Milchenzym in keiner Weise fähig sind. Worauf die entgegengesetzten Befunde von Bach und Michlin zurückzuführen sind, vermögen wir nicht zu sagen.

Es soll noch besonders betont werden, daß weder Xanthin noch Hypoxanthin Phosphorwolframsäure zu der blauen Reduktionsstufe umwandeln, die der Harnsäurebestimmung zugrunde liegt. Das ergibt sich nicht nur aus unseren letzten Versuchen, sondern aus besonderen Kontrollen.

Digitized by Google

Die stereoisomeren Resorcite und Phloroglucite;

von *Hans Lindemann* und *Helmut Baumann*.

(Aus dem Chemischen Institut der Techn. Hochschule Braunschweig).

(Eingelaufen am 9. November 1929.)

Unter den Hydrierungsprodukten der zweiwertigen Phenole kennt man nur die *ortho*-[1]) und *para*[2])-*Cyclohexandiole* in reinem Zustande. Die *m*-Verbindungen sind lediglich in Form eines Gemisches erhalten worden; sie entstehen nebeneinander bei der katalytischen Hydrierung des Resorcins und bilden nach Senderens und Aboulenc[3]) eine glasige Masse, die gegen 45° schmilzt; Sabatier und Mailhe[4]) geben den Schmelzp. zu 65° an.

Über die *Cyclohexantriole* sind unsere Kenntnisse noch unzureichender. Die 1,2,4-Verbindung ist nur als Gemisch von Stereoisomeren bekannt geworden.[5]) Von den 1,3,5-Triolen hat W. Wislicenus[6]) einen Vertreter in reiner Form isoliert; der andere, stereoisomere Alkohol ist nur in Mischung mit dem ersten erhalten worden.[4]) [5]) Als 1,2,3-Derivate schließlich werden *fünf* verschieden schmelzende Verbindungen beschrieben[4]) [5]) [7]), obwohl theoretisch nur *drei* denkbar sind.

Die *Konfiguration* der Cyclohexandiole und -triole ist in den meisten Fällen völlig ungeklärt. Nur für die *o-Dioxyverbindungen* steht sie sicher fest. Die höher schmelzende Modifikation dieses Diols konnte von Derx[8]) in optische

[1]) Markownikoff, A. **302**, 21 (1898); Brunel, Ann. chim. phys. (8) **6**, 200 (1905); Sabatier u. Mailhe, C. r. **146**, 1195 (1908); Senderens u. Aboulenc, C. r. **173**, 1366 (1921); Böeseken u. Mitarbeiter, Rec. trav. Pays Bas **39**, 183 (1920); Derx, ebenda **41**, 312 (1922).

[2]) A. v. Baeyer, B. **25**, 1037 und 1840 (1892); A. **278**, 92 (1894); Willstätter u. Lessing, B. **34**, 507 (1901); Palfray u. Rothstein, Bull. Soc. France **43**, 1128 (1928).

[3]) C. r. **173**, 1366 (1921). [4]) C. r. **146**, 1195 (1908).

[5]) Senderens u. Aboulenc, C. r. **174**, 616 (1922).

[6]) B. **27**, 358 (1894). [7]) Brunel, C. r. **150**, 987 (1910).

[8]) Rec. trav. Pays Bas **41**, 312 (1922).

Digitized by Google

Antipoden gespalten werden; in ihr liegt demnach die *trans*-Form, in der niedriger schmelzenden also die *cis*-Form vor. In der Literatur wird zwar auch von den beiden *p*-Cyclohexandiolen das höher schmelzende Isomere stets als *trans*-Derivat, das andere als *cis*-Verbindung bezeichnet; bewiesen ist aber die Richtigkeit dieser Benennung niemals. Sie ist von A. v. Baeyer willkürlich vorgenommen[1]) und im Laufe der Jahre beibehalten worden.

Bei der Beschäftigung mit einem Problem, über das wir später berichten möchten, interessierten uns in besonderem Maße die stereoisomeren *m-Dioxy- und -Trioxyderivate des Cyclohexans*, die *Resorcite* und *Phloroglucite*. Es ist uns gelungen, die *cis*- und *trans*-Formen beider Alkohole in reinem Zustande zu isolieren. Wir veröffentlichen einen abgeschlossenen Teil unserer Resultate schon jetzt im Hinblick auf eine kürzlich erschienene Mitteilung von Palfray und Rothstein.[2]) Diese Autoren stellten aus dem *Hydrierungsprodukt des Resorcins* eine Reihe von Äthern und Estern her; dabei konnten sie *zwei isomere Benzoylderivate* fassen. Über die diesen Verbindungen zugrunde liegenden *Resorcite* selbst machen sie keine Angaben.

Nach Skita[3]) gelangt man bei der katalytischen Hydrierung von mehrwertigen Substitutionsprodukten des Benzols oftmals zu den räumlichen Antipoden, wenn man die Acidität des Mediums wechselt: in saurer Lösung entsteht überwiegend die *cis*-Verbindung, in alkalischer Lösung ist die Bildung der *trans*-Form begünstigt. Bei der Hydrierung des Resorcins führt diese Methode nicht zum Ziel, da bei dem Paal-Skitaschen Hydrierverfahren *Hexahydroresorcine* überhaupt nicht erhalten werden. Unter dem Einfluß des Platin-Katalysators erfolgt Eliminierung einer oder beider OH-Gruppen, so daß lediglich *Cyclohexanol* und *Cyclohexan* als Reaktionsprodukte zu fassen sind. Wir haben deshalb zur Hydrierung des Resorcins einen gemischten Ni-Co-Cu-Kataly-

[1]) „Die höher schmelzenden Isomeren bezeichne ich mit ‚trans', ohne beweisen zu können, daß ihnen die entsprechende geometrische Konfiguration zukommt". v. Baeyer, B. 25, 1840, Anm. 2 (1890).

[2]) C. r. 189, 188 (1929). [3]) B. 53, 1797 (1920).

Digitized by Google

sator verwandt, der sich — in neutralem Medium angewandt — ausgezeichnet bewährt hat. Auf die Erzielung einer bestimmten Konfiguration schon bei der Darstellung mußten wir allerdings unter diesen Umständen verzichten. Die Operation wurde unter ähnlichen Bedingungen vorgenommen wie sie Senderens und Aboulenc[1]) angewandt haben. Wir arbeiteten in einem Hochdruck-Autoklaven aus V2A-Stahl mit Rührvorrichtung bei 60 Atm. Wasserstoffdruck; als Lösungsmittel dienten Wasser, Alkohol und Dekalin. Auch unter diesen Umständen werden stets *Cyclohexan* und *Cyclohexanol* als Nebenprodukte erhalten; sie treten aber nur in verhältnismäßig kleinen Quantitäten auf und können vor der Verarbeitung des Hydrierguts mit Wasserdampf abgetrieben werden. Ihre Menge wechselt mit dem angewandten Lösungsmittel:

Lösungsmittel:	Menge der flüchtigen Nebenprodukte:
Wasser	24 Proc.
Dekalin	18 Proc.
Alkohol	8 Proc.

Das von den Nebenprodukten und vom Katalysator befreite Reaktionsgut bildet nach dem Eindampfen eine gelbbraune sirupöse Flüssigkeit, die entsprechend den Angaben von Senderens und Aboulenc durch Destillation im Vakuum gereinigt werden kann. Sie geht von etwa 140—150°$_{13}$ über und erstarrt beim Erkalten zu einer gallertartigen Masse. Trotz des recht großen Siedeintervalls gelang die Zerlegung des offenbar vorliegenden Isomeren-Gemisches durch fraktionierte Destillation nicht; auch die *Acetylderivate* ließen sich nicht voneinander scheiden. Ein besseres Resultat erzielten wir an den *Dibromiden*, die durch Einwirkung von Bromwasserstoff auf das Hydriergut leicht zu erhalten sind. Das flüssige Reaktionsprodukt scheidet nach der Destillation im Vakuum einen festen, bei 112° schmelzenden Stoff aus. Der flüssig gebliebene Anteil siedet konstant bei 116°$_{16}$ und schmilzt bei etwa 1°. Die Analyse zeigte, daß beide Stoffe

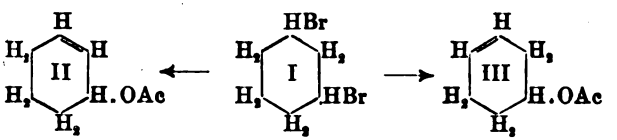
[1]) A. a. O.

Digitized by Google

Dibrom-cyclohexane sind. Da Verschiebung eines Bromatoms im Kern wohl kaum in Frage kommt, dürften in ihnen die beiden möglichen stereoisomeren m-Verbindungen vorliegen.

Durch Austausch der Bromatome gegen Hydroxyl hofften wir rückwärts zu den *stereoisomeren Resorciten* zu gelangen. Die Umesterung mit Silberacetat nach Brunel[1]) verläuft aber nicht einheitlich.[2]) Das aus dem flüssigen Dibromid gewonnene Reaktionsprodukt läßt sich in zwei Bestandteile von den Siedep. $35^0_{0,4}$ und $95^0_{0,4}$ zerlegen. Nur die höher siedende Fraktion erwies sich als das gesuchte Diacetylderivat. Da es in geringerer Menge entsteht und seine Verseifung zum Diol ebenfalls nicht glatt verläuft, haben wir zur Erreichung unseres Zieles andere Wege beschritten.

Die Fraktion vom Siedep. $35^0_{0,4}$ besitzt einen durchdringenden esterartigen Geruch und erwies sich als ungesättigt. Auf Grund dieser Eigenschaften und der Analyse dürfte in dem Stoff ein Cyclohexenolacetat vorliegen. Es ist also bei der Bildung dieser Verbindung unter der Einwirkung des Silberacetates nur ein Bromatom gegen den Oxacylrest ausgetauscht, das andere in Form von Bromwasserstoff eliminiert worden. Diese HBr-Abspaltung kann a priori in zweierlei Richtung vor sich gehen:



Demnach war anzunehmen, daß in dem Reaktionsprodukt entweder das Acetat des Δ_2-(II) oder dasjenige des Δ_3-Cyclohexenols (III) vorliegt.[3]) Zur Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten wurde es mit alkoholischem Alkali zum zugehörigen Cyclohexenol verseift. Der so erhaltene Alkohol lieferte mit Phenylisocyanat ein bei 83° schmelzendes Phenylurethan, mit α-Naphtylisocyanat ein Naphtylurethan vom Schmelzpunkt 127°. Mit dem Δ_2-Cyclohexenol kann er danach nicht identisch

[1]) A. chim. phys. (8) **6**, 227 (1905).

[2]) Ersatz des Silberacetats gegen Kaliumacetat zeitigt kein besseres Ergebnis.

[3]) Daß nicht etwa eine Verschiebung der Doppelbindung unter Bildung des Δ_1-Cyclohexenol-acetats eingetreten ist, geht aus der Tatsache hervor, daß der Ester mit Alkohol und konz. Schwefelsäure eine intensive Blaufärbung gibt, eine Reaktion, die die Δ_1-Verbindung nicht liefert.

Digitized by Google

sein; denn für diesen Stoff liegen nach Willstätter[1]) die Schmelzpunkte erheblich höher:

Schmelzpunkt des	fraglichen Cyclohexenols	Δ_2-Cyclohexenols[2])
Phenylurethans . . .	83°	107°
α-Naphtylurethans . .	127°	156°

Somit war es wahrscheinlich geworden, daß in dem von uns erhaltenen Cyclohexenol die Δ_3-Verbindung vorliegt, die bereits von Baeyer[2]) aus Chinit über das p-Jodcyclohexanol erhalten worden ist. Den Schmelzpunkt des Phenylurethans gibt er zu 79° an. Um sicher zu gehen, haben wir das Δ_3-Cyclohexenol aus Chinit bereitet[3]) und in das Phenyl- und das α-Naphtylurethan übergeführt; diese Stoffe erwiesen sich mit den oben erwähnten als identisch. *Die Bromwasserstoffabspaltung aus dem m-Dibromcyclohexan verläuft also im Sinne* I ⟶ III.

Bei der Behandlung des Hydrierguts mit Benzoylchlorid in Pyridin wurden zwei *Benzoylderivate* erhalten: in größerer Menge ein gut krystallisierender Stoff vom Schmelzp. 122°, daneben in mäßiger Ausbeute ein niedriger schmelzendes Produkt (Schmelzp. 65°) mit geringerer Krystallisationsneigung; beide erwiesen sich wieder als Isomere. Leider verläuft auch hier die Überführung in die zugrundeliegenden *Diole* nicht glatt. Die Benzoate sind nämlich sehr stabile Stoffe, die durch konz. Säuren oder Laugen nur sehr langsam angegriffen werden; durch Destillation mit Alkalien werden sie völlig zersetzt. Mit den von Palfray und Rothstein[4]) beschriebenen Substanzen sind sie offenbar identisch.

Bei der Einwirkung von Phenylisocyanat auf das Hydriergut läßt sich ein *Phenylurethan* vom Schmelzp. 213° leicht in reinem Zustand abscheiden. Auch dieser Stoff ist sehr beständig und konnte durch Erhitzen mit konz. Salzsäure in geschlossenem Rohr selbst bei 300° nicht aufgespalten werden; dagegen gelingt seine Verseifung bei der Destillation mit der berechneten Menge Barium- oder Kaliumhydroxyd. Dabei wird neben Wasser und Anilin ein bei $141°_{13}$ siedendes farbloses Öl erhalten, das in der Vorlage sofort erstarrt. Es krystallisiert

[1]) B. 46, 2957 (1913). [2]) A. 278, 97 (1893).

[3]) Man gelangt am schnellsten zu dem ungesättigten Alkohol, wenn man Chinit mit Kaliumbisulfat erhitzt.

[4]) a. a. O.

Digitized by Google

aus Aceton oder Essigester in farblosen Tafeln, die bei 83° scharf schmelzen, in Wasser und Alkohol leicht löslich sind und süßen Geschmack besitzen. Die Analyse stimmt auf die Formel $C_6H_{12}O_2$. In dem Stoff liegt offenbar ein *stereochemisch einheitlicher Resorcit* vor; wir bezeichnen ihn vorläufig als *α-Resorcit*. Daß bei der Destillation mit Alkali eine Umlagerung nicht eingetreten ist, geht aus der Tatsache hervor, daß das Diol bei der Behandlung mit Phenylisocyanat das Urethan vom Schmelzp. 213° zurückbildet. Mit Benzoylchlorid in Pyridin erhält man das niedrig schmelzende Benzoat (Schmelzp. 65°). Auch diese beiden Stoffe gehören demnach zur *α-Reihe*. Im Benzoat vom Schmelzp. 122° dagegen muß ein Vertreter der *β-Modifikationen* vorliegen. Die Isolierung des reinen β-Urethans ist uns nicht geglückt.

Um auch zu dem β-Resorcit zu gelangen, fahndeten wir weiter nach einem gut kristallisierenden und leicht spaltbaren Vertreter dieser Reihe und fanden ihn in Gestalt des *Ditriphenylmethyläthers*. Bei der Umsetzung des Hydrierguts mit Triphenylchlormethan in Pyridinlösung erhält man neben etwas Triphenylcarbinol ein Gemisch zweier Ditritylderivate, die auf Grund ihrer verschiedenen Löslichkeit in Essigester oder Benzin gut voneinander getrennt werden können. Beide lassen sich mit acetonischem Chlorwasserstoff glatt verseifen: die niedriger schmelzende Verbindung (Schmelzp. 144°) liefert dabei in mehr als 90 Proc. Ausbeute den schon beschriebenen *α-Resorcit* vom Schmelzp. 83°; aus dem höher schmelzenden Äther erhält man in entsprechender Menge die *β-Verbindung* als farbloses zähes Öl, das bei 142—143°$_{20}$ siedet und in der Kälte zu einer durchsichtigen amorphen Masse erstarrt. Wie das feste Isomere schmeckt das flüssige Diol süß und ist in Wasser und Alkohol leicht löslich. Trotzdem es beim Abkühlen bisher nicht krystallin erhalten werden konnte, dürfte in ihm die reine β-Form vorliegen; denn es bildet mit Triphenylchlormethan den bei 199° schmelzenden Trityläther zurück; mit Benzoylchlorid entsteht das Benzoat vom Schmelzp. 122°. Nunmehr konnten auch die beiden oben beschriebenen *Bromide* in die ihnen zugehörige Reihe eingewiesen werden: das bei 112° schmelzende entsteht bei der

Digitized by Google

Behandlung des α-Resorcits mit Bromwasserstoff; es gehört also zur α-, das flüssige Isomere demnach zur β-Reihe. In der nachstehenden Tabelle sind die Glieder beider Reihen mit ihren Schmelzpunkten zusammengestellt:

	Alkohole	Dibromide	Acetylderivate	Benzoylderivate	Phenylurethane	α-Naphtylderivate	Ditrityläther
α-Reihe	83°	112°	flüssig	65°	213°	245°	144°
β-Reihe	flüssig	flüssig	flüssig	122°	—	—	199°

Zu entscheiden blieb nun noch die Frage, welche *räumliche Konfiguration* die beiden stereoisomeren Reihen besitzen. Sind die Glieder der α- oder der β-Reihe als die cis-Verbindungen anzusprechen? Am Modell ist leicht zu erkennen, daß bei den trans-Formen *Spiegelbildisomerie* möglich ist, bei den cis-Formen dagegen nicht. Wir suchten deshalb festzustellen, welches der beiden Isomeren in optische Antipoden spaltbar ist. Zu dem Zwecke setzten wir die beiden Diole mit *l-Menthyl-isocyanat* um. Der flüssige β-Resorcit liefert mit diesem Reagens eine glasige Masse, aus der wir kristallisierende Produkte bisher nicht isolieren konnten. Der feste α-Resorcit dagegen bildet ein wohldefiniertes *l-Menthyl-urethan*. Es hinterbleibt beim Auskochen des Reaktionsgemisches mit Benzin als fast weißes, bei 156° schmelzendes Krystallpulver; bei Verwendung von 6 g α-Resorcit wurden auf diesem Wege 6,8 g Urethan erhalten. Aus den Benzinmutterlaugen wurden weitere 4,7 g vom Schmelzp. 148/153° gewonnen. Die beiden Fraktionen geben miteinander keine Schmelzpunktsdepression; auch erwies sich ihr *Drehungsvermögen* als nahezu gleich. Für die Fraktion I fanden wir in alkoholischer Lösung $[\alpha]_D^{17,5°} = -63{,}73°$, für Fraktion II $[\alpha]_D^{17,5°}$ zu $-61{,}07°$.

Das Urethan läßt sich durch Umlösen nicht gut reinigen. Es bildet aber mit *Tetrachlorkohlenstoff* eine prächtig krystallisierende *Molekülverbindung*, die beim Erhitzen in ihre Komponenten zerfällt. Nach der Reinigung über dieses Additionsprodukt besaßen beide Esterfraktionen rein weiße Farbe und übereinstimmenden Schmelzpunkt (157°); auch die Werte für

Digitized by Google

das Drehungsvermögen waren noch näher aneinandergerückt: für Fraktion I $[\alpha]_D^{18} = -64{,}73^0$, für Fraktion II $[\alpha]_D^{18} = -63{,}50^0$ in Alkohol.

Läge in dem α-Resorcit die *trans*-Verbindung vor, so hätte die Umsetzung mit dem optisch aktiven Isocyanat zu *zwei enantiomeren Urethanen* — in je höchstens 50 Proc. Ausbeute — führen müssen. Aus dem Umstande, daß wir nur *ein* Urethan und dieses in einer Menge von über 50 Proc. der Theorie (11,5 statt 10,3 g) fanden, geht eindeutig hervor, daß der angewandte Resorcit die *nichtspaltbare cis*-Verbindung sein muß. Mit dieser Schlußfolgerung in bestem Einklang steht die Tatsache, daß das über die Molekülverbindung mit Tetrachlorkohlenstoff gereinigte Urethan bei der Verseifung mit methylalkoholischem Kali einen *optisch inaktiven Resorcit* liefert. *Es liegen somit in den als α-Reihe bezeichneten Verbindungen die cis-Modifikationen, in der β-Reihe die trans-Derivate vor.*

Wie von den *Resorciten*, so konnten wir auch von den *Phlorogluciten* die beiden theoretisch vorauszusehenden Stereoisomeren (cis, cis, cis- und cis, cis, trans-Verbindung) isolieren. Es erwies sich sogar als möglich, das Hydriergut unmittelbar — d. h. ohne Vermittlung von Derivaten — in seine Bestandteile zu zerlegen. Über die räumliche Konfiguration der beiden Vertreter allerdings können wir vorläufig keine Angaben machen; denn beide Formen sind mit ihren Spiegelbildern identisch und deshalb nicht in optische Antipoden spaltbar.

Die *Hydrierung des Phloroglucins* wurde unter denselben Bedingungen durchgeführt wie die des Resorcins. Es zeigte sich dabei, daß hier die Nebenreaktionen — Eliminierung von OH-Gruppen unter Bildung von *Cyclohexanol* und *Cyclohexan* — in wesentlich stärkerem Maße auftreten als dort. So konnten wir beim Arbeiten in *wäßriger* Lösung nur etwa 1 Proc. des Hydrierguts in reiner Form abscheiden. Wechsel des Lösungsmittels verbesserte auch hier das Ergebnis. In *alkoholischer* Lösung gewannen wir etwa 10 Proc., in *Dekalin* sogar rund 30 Proc. an festen *Cyclohexantriolen*. Wurde die Operation in dem zuletzt genannten Lösungsmittel vorgenommen, so

Digitized by Google

zeigten sich meist schon beim Öffnen des Autoklaven an den Gefäßwandungen und am Rührer große weiße Krystalle des einen Isomeren. Es ist der höher schmelzende *Phloroglucit* (Schmelzp. 184°), der auf diesem Wege gewonnen werden kann. Wir bezeichnen ihn vorläufig als α-Verbindung. Er ist mit dem von Wislicenus[1]) beschriebenen Triol offenbar identisch.

Das von den Nebenprodukten und vom Katalysator befreite Hydriergut liefert beim Einengen meist nochmals eine Krystallisation des α-Phloroglucits. Aus der Mutterlauge kann man dann — wie im Versuchsteil beschrieben — die bisher unbekannte *stereoisomere β-Verbindung* isolieren. Sie schmilzt bei 145°. Zur Charakterisierung beider Triole wurden ihre *Phenylurethane* hergestellt: das der α-Verbindung schmilzt bei 245, das der β-Verbindung bei 160°. Über das chemische Verhalten der beiden Phloroglucite werden wir in anderem Zusammenhange ausführlicher berichten.

Versuchsteil.

1. Die katalytische Hydrierung des Resorcins.

Als Reaktionsgefäß diente ein aus V2A-Stahl gefertigter Rührautoklav von $^1/_2$ Liter Inhalt.[2]) Zu jedem Ansatz wurde 1 Mol durch Destillation gereinigtes Resorcin (110 g) mit 15 g des in 100 g Lösungsmittel (Wasser, Alkohol oder Dekalin) suspendierten Katalysators eingeschlossen. In den mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe von Luft weitgehend befreiten Apparat füllt man Wasserstoff bis zu einem Druck von 50 atm., beheizt dann das Reaktionsgefäß und setzt zugleich die Rührvorrichtung in Gang. Von etwa 90° an steigert man die Temperatur langsam. Gegen 100° beginnt die Wasserstoffaufnahme, die sich am Fallen des Manometers leicht verfolgen läßt. Sie wird bei etwa 125° sehr lebhaft und läßt nach einigen Stunden wieder erheblich nach. Wenn die Absorption nahezu aufgehört hat (nach etwa 5 Stunden), bricht man die Hydrierung ab, läßt erkalten und spült den gesamten Autoklaveninhalt in einen Kolben. Zur Entfernung der Nebenprodukte wird das Reaktionsgemisch der Wasserdampfdestillation unterworfen, bis das Wasser nur noch geringe Ölbeimengung zeigt. Die im Kolben zurückbleibende Flüssigkeit wird vom Katalysator befreit und unter vermindertem Druck möglichst weitgehend eingedampft. Es hinterbleibt ein dicker brauner Sirup, der der Vakuumdestillation unterworfen wird.

[1]) a. a. O.

[2]) Geliefert von der Firma Andreas Hofer in Mülheim a. d. Ruhr.

Digitized by Google

Von 140—150°$_{13}$ etwa geht das Resorcitgemisch als farbloses, zähes Öl über, das beim Erkalten zu einer glasigen Masse erstarrt.

Die Nebenprodukte. Das beim Abtreiben der Nebenprodukte mit Wasserdampf erhaltene Destillat wird mit Kochsalz gesättigt, das ausgeschiedene Öl in Äther aufgenommen und nach dem Trocknen destilliert. Es wurden drei Fraktionen gewonnen: 1. 40—65°, 2. 66—150°, 3. 151 bis 165°. Ein Rückstand hinterbleibt nicht. Fraktion 1 bestand im wesentlichen aus Äther. Die 2. Fraktion ging bei nochmaliger Destillation fast vollständig zwischen 79 und 80° über. Sie erwies sich als *Cyclohexan*:

0,1536 g Subst.: 0,4828 g CO_2, 0,1980 g H_2O.

C_6H_{12}	Ber.	C 85,61	H 14,39
	Gef.	„ 85,73	„ 14,43.

Bei der Rektifizierung der dritten Fraktion wurde eine Flüssigkeit erhalten, die konstant bei 156,5° überging und als *Cyclohexanol* erkannt wurde. Sie lieferte mit Phenylisocyanat ein *Urethan*, das nach dem Umlösen aus Benzin bei 87° schmolz; mit einem aus technischem Cyclohexanol hergestellten Präparat (Schmelzp. ebenfalls 87°) zeigte es keine Schmelzpunktsdepression.

2. Die stereoisomeren 1,3-Dibrom-cyclohexane.

In die Lösung von 30 g ($^1/_4$ Mol) des Hydrierguts[1]) in 100 ccm Wasser leitet man bei guter Kühlung bromfreien Bromwasserstoff bis zur Sättigung ein und erhitzt dann noch 2 Stunden auf dem Wasserbade. Dabei scheidet sich aus der dunkelroten Lösung allmählich ein rotes, manchmal auch grünlich gefärbtes Öl ab. Nach dem Erkalten neutralisiert man und nimmt die bromhaltigen Produkte in Äther auf. Man trocknet, verjagt das Lösungsmittel und unterwirft den flüssigen Rückstand der Vakuumdestillation. Die Hauptmenge geht von 113—122°$_{13}$ über. Beim Abkühlen des Destillats krystallisiert ein feiner, weißer Körper aus, dessen Menge allmählich zunimmt.

cis-Verbindung. Das Öl-Krystall-Gemisch wird an der Saugpumpe getrennt. Die auf dem Filter zurückbleibenden Krystalle werden vom anhaftenden Öl durch Waschen mit Alkohol befreit. Dann krystallisiert man das feste Dibromid aus der sechsfachen Gewichtsmenge Alkohol um. Es er-

[1]) Unter „Hydriergut" wird hier und im folgenden stets der von den Nebenprodukten und vom Katalysator befreite und destillierte Autoklaveninhalt verstanden.

Digitized by Google

scheint in Form von Stäbchen, die bei 112° schmelzen. Sie sind sehr leicht löslich in Benzol, schwerer in Benzin oder Alkohol, sehr schwer in Wasser.

0,1359 g Subst.: 0,2112 g AgBr.
$C_6H_{10}Br_2$ Ber. Br 66,07 Gef. Br 66,14.

trans-Verbindung. Das durch Zerlegung des Öl-Krystall-Gemisches erhaltene flüssige Produkt wird zur Reinigung nochmals im Vakuum destilliert. Bei sehr kleinem Vor- und Nachlauf geht die Hauptmenge bei $116^0{}_{16}$ über. Die Substanz erstarrt bei Zimmertemperatur nicht, wird aber in der Eis–Kochsalz-Mischung fest und schmilzt dann bei 1°.

0,2165 g Subst.: 0,3353 g AgBr.
$C_6H_{10}Br_2$ Ber. Br 66,07 Gef. Br 65,91.

3. Die Resorcit-diacetate.

Das Hydriergut wird mit Essigsäureanhydrid und wenig Schwefelsäure acetyliert. Die Reaktion geht unter lebhafter Wärmeentwicklung vor sich. Nach dem Erkalten wird mit Wasser verdünnt und neutralisiert; das ausgeschiedene Öl wird in Äther aufgenommen. Man verjagt das getrocknete Lösungsmittel und destilliert den Rückstand. In ihm liegt ein *Gemisch der beiden Stereoisomeren* vor; es geht von 245 bis 248° über.

0,1126 g Subst.: 0,2476 g CO_2, 0,0804 g H_2O.
$C_{10}H_{16}O_4$ Ber. C 59,96 H 8,06
Gef. „ 59,97 „ 7,99.

Das reine *trans-Resorcit-diacetat* kann man aus dem *trans-Dibromid* nach folgender Vorschrift gewinnen:

24,2 g ($^1/_{10}$ Mol) des *trans*-1,3-*Dibrom-cyclohexans* werden in Eisessig gelöst und unter häufigem Umschütteln mit 33,5 g ($^1/_5$ Mol) Silberacetat 4 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Dann wird das gebildete Halogensilber abgesaugt und das Filtrat mit verdünnter Pottaschelösung neutralisiert. Dabei scheidet sich ein Öl von esterartigem Geruche ab, das man in Äther aufnimmt. Nach dem Trocknen wird das Lösungsmittel verjagt und der Rückstand im Hochvakuum destilliert. Man erhält 2 Fraktionen; bei einem Druck von 0,4 mm siedet die erste von 33—37°, die zweite von 94—96°. In der höher sieden-

Digitized by Google

den Fraktion liegt das *trans-Resorcit-diacetat* vor. Bei der Rektifizierung geht es scharf bei $95^0_{0,4}$ über.

0,0983 g Subst.: 0,2156 g CO_2, 0,0700 g H_2O.

$C_{10}H_{16}O_4$	Ber.	C 59,96	H 8,06
	Gef.	„ 59,82	„ 7,97.

Δ_3-Cyclohexenol-acetat.

Die bei der vorstehend beschriebenen Umsetzung gewonnene Fraktion vom Siedep. 33—$37^0_{0,4}$ stellt das *Δ_3-Cyclohexenol-acetat* vor. Zur Reinigung destilliert man es nochmals; Siedep. 75^0_{20} oder $35^0_{0,3}$. Der Ester entfärbt alkalische Kaliumpermanganat-Lösung bei gelindem Erwärmen, Brom in Eisessig schon in der Kälte; mit *Äthanol* und *konz. Schwefelsäure* gibt er eine *tiefblaue* Färbung.[1])

0,1649 g Subst.: 0,4144 g CO_2, 0,1280 g H_2O.

$C_8H_{12}O_2$	Ber.	C 68,52	H 8,64
	Gef.	„ 68,54	„ 8,69.

Δ_3-Cyclohexenol.

14 g ($^1/_{10}$ Mol) des *Δ_3-Cyclohexenol-acetats* werden in 30 ccm Alkohol gelöst und mit 5,6 g ($^1/_{10}$ Mol) festem Ätzkali $^1/_2$ Stunde am Rückflußkühler erhitzt. Dann wird das stark braun gewordene Reaktionsgemisch in Wasser gegossen. Man extrahiert mit Äther, trocknet mit wasserfreiem Natriumsulfat und verjagt das Lösungsmittel. Bei anschließender Vakuumdestillation erhält man nach einem geringen Vorlauf von Äthanol das *Cyclohexenol* als farblose Flüssigkeit vom Siedep. 61^0_{19}. Zur Reinigung wird es nochmals im Vakuum destilliert. Es gibt mit Kaliumpermanganat, mit Brom und mit alkoholischer Schwefelsäure dieselben Reaktionen wie sein Acetat.

0,0881 g Subst.: 0,2367 g CO_2, 0,0817 g H_2O.

$C_6H_{10}O$	Ber.	C 73,41	H 10,28
	Gef.	„ 73,27	„ 10,38.

Phenylurethan. 2,5 g des Δ_3-Cyclohexenols werden mit 3 g Phenylisocyanat auf dem Wasserbad bis zum Erstarren des Reaktionsgemisches

[1]) F. Hofmann und P. Damm [Mitteilungen aus dem Schles. Kohlenforschungsinstitut der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft, 2, 129 (1925)] geben dieselbe Reaktion für das Δ_2-Cyclohexenol an.

Digitized by Google

erhitzt. Wasser und Wasserdampf sind dabei fernzuhalten. Das Urethan wird aus Benzin (60—70°) umkrystallisiert und schmilzt rein bei 83°.

0,2758 g Subst.: 15,6 ccm N (18,5°, 743 mm).
$C_{13}H_{15}O_2N$ Ber. N 6,45 Gef. N 6,48.

α-Naphtylurethan. Bereitung wie vorstehend aus 2,5 g Cyclohexenol und 4,3 g α-Naphtylisocyanat. Das Gemisch erstarrt im Wasserbade nicht. Nach einer Stunde nimmt man das gebildete Urethan in siedendem Alkohol auf, filtriert von etwas ungelöst bleibendem Dinaphtylharnstoff ab und läßt erkalten. Das auskrystallisierte Urethan wird aus Äthanol umgelöst. Schmelzp. 127°.

0,1569 g Subst.: 7,4 ccm N (17,5°, 750 mm).
$C_{17}H_{17}O_2N$ Ber. N 5,25 Gef. N 5,47.

4. Die Benzoylderivate der stereoisomeren Resorcite.

20 g des Hydriergutes werden in der siebenfachen Menge Pyridin gelöst und mit 100 g Benzoylchlorid allmählich versetzt. Man erhitzt eine Stunde auf dem Wasserbade und läßt erkalten. Bei der Behandlung des Reaktionsgemisches mit verd. Salzsäure scheidet sich ein Öl ab, das allmählich halbfest wird. Es besteht aus *cis-* und *trans-Resorcit-dibenzoat* und beigemengter *Benzoesäure.* Um diese zu entfernen, wird die Masse mehrere Male bei Zimmertemperatur mit verd. Sodalösung durchgerührt. Verreibt man den zähen Rückstand dann mit Alkohol, so geht die cis-Verbindung in Lösung, während das trans-Derivat zurückbleibt.

trans-Verbindung. Der feste Rückstand wird zweimal aus Alkohol umgelöst und schmilzt dann bei 121—123°; mit Benzoesäure (Schmelzp. 121°) und Resorcindibenzoat (Schmelzpunkt 117°) starke Depressionen des Schmelzpunkts. Das *trans*-Derivat ist schwer in Wasser, leicht in Benzol löslich. Umkrystallisiert wird aus Eisessig, Alkohol oder Benzin. Die gleiche Verbindung erhält man bei der Benzoylierung des reinen *trans*-Resorcits.

0,1066 g Subst.: 0,2890 g CO_2, 0,0582 g H_2O.
$C_{20}H_{20}O_4$ Ber. C 74,04 H 6,22
Gef. „ 73,94 „ 6,11.

cis-Verbindung. Beim Eindampfen der oben erwähnten alkoholischen Mutterlauge erhält man eine ölige Masse, die von Krystallen der cis-Verbindung durchsetzt ist. Man streicht

Digitized by Google

sie auf Ton und löst die hinterbleibende feste Substanz aus wenig Methylalkohol um. Das *cis-Dibenzoat* schmilzt bei 65°. In ausgezeichneter Ausbeute erhält man dasselbe Produkt bei der Benzoylierung des reinen *cis*-Resorcits. Es ist schwer löslich in Wasser; in allen organischen Flüssigkeiten löst es sich sehr viel leichter als das trans-Isomere. Umgelöst wird es aus Benzin oder Methanol.

0,0991 g Subst.: 0,2680 g CO_2, 0,0555 g H_2O.

$C_{20}H_{20}O_4$	Ber.	C 74,04	H 6,22
	Gef.	„ 73,75	„ 6,27.

5. Die Urethane der stereoisomeren Resorcite.

cis-Resorcit-di-phenylurethan. 116 g (1 Mol) des Hydrierguts werden mit 240 g (2 Mol) *Phenylisocyanat* gelinde erwärmt. Das nach dem Erkalten zu einer glasigen Masse erstarrende Reaktionsprodukt wird mit kaltem Alkohol angerieben. Dabei gehen die *trans*-Verbindung und Nebenprodukte in Lösung. Der zurückbleidende Ester schmilzt roh bei 210°, nach dem Umlösen aus Alkohol bei 213°. In Wasser ist er schwer löslich; in Benzol, Alkohol, Chloroform, Eisessig und Nitrobenzol löst er sich in der Hitze. Aus dem reinen *cis*-Resorcit erhält man das Urethan in analoger Weise.

0,1228 g Subst.: 0,3058 g CO_2, 0,0700 g H_2O. — 5,975 mg Subst. 4,165 cmm N (18,5°, 766 mm).

$C_{20}H_{22}O_4N_2$	Ber.	C 67,76	H 6,26	N 7,91
	Gef.	„ 67,91	„ 6,38	„ 8,23

Bei der *Destillation mit Ätznatron* erhält man aus dem Urethan den *cis-Resorcit* vom Schmelzp. 83° (vgl. S. 93).

trans-Resorcit-di-phenylurethan. Die bei der Herstellung der cis-Verbindung abfallende alkoholische Lösung enthält das *trans*-Derivat. Jedoch ließ sich aus ihr ein definiertes Produkt nicht isolieren. Stets erhielten wir beim Aufarbeiten eine amorphe, schellackartige Masse, die keine Neigung zur Krystallisation zeigte. Daß sie aber tatsächlich das gesuchte Urethan in beträchtlicher Menge enthält, geht aus ihrem Verhalten bei der Destillation mit Alkali hervor. Sie liefert bei dieser Umsetzung neben Anilin den *trans-Resorcit*, wenn auch nicht in völlig reinem Zustand.

Digitized by Google

cis-Resorcit-di-(α-naphtylurethan). **3 g Hydriergut werden mit 8,5 g *α-Naphtylisocyanat* bei Ausschluß von Wasser zwei Stunden im Wasserbade erhitzt. Nach Ablauf dieser Zeit wird das erstarrte Reaktionsgemisch mit heißem Alkohol behandelt. Dabei hinterbleibt das *cis-Urethan* als unlöslicher Rückstand. Es schmilzt, aus Nitrobenzol umgelöst, bei 245°.**

0,1666 g Subst.: 9,0 ccm N (17,0°, 753 mm).
$C_{28}H_{26}O_4N_2$ Ber. N 6,17 Gef. N 6,30.

6. Die Triphenylmethyläther der stereoisomeren Resorcite.

Zur Lösung von 58 g ($^1/_2$ Mol) des Hydrierguts in 400 g wasserfreiem Pyridin gibt man 278 g (1 Mol) pulverisiertes *Triphenylchlormethan*. Es geht beim Umschütteln unter mäßiger Wärmeentwicklung vollständig in Lösung. Man erhitzt dann das Reaktionsgemisch 8 Stunden lang auf dem Wasserbade. Von dem ausgeschiedenen *Pyridin-hydrochlorid* trennt man heiß. Beim Erkalten scheiden sich aus dem Filtrat erneut Krystalle in erheblicher Menge aus (Fraktion A.) Saugt man sie ab, so erscheint eine weitere Fraktion (B); durch Wasser kann der Rest gefällt werden. In den Fraktionen A und B lagen in einigen Fällen schon die *stereoisomeren Äther* getrennt vor; meistens aber erwiesen sie sich als Gemische der Isomeren, verunreinigt mit Triphenylcarbinol. Zur weitgehenden Befreiung von diesem unerwünschten Begleiter erwies sich die Behandlung mit *Essigester* als geeignetes Mittel. In diesem Agens löst sich das Carbinol schon in der Kälte ganz beträchtlich, während die Trityläther unter diesen Umständen beide als schwer löslich zu bezeichnen sind. Man reibt deshalb das Gemisch der drei Stoffe mit Essigester an und saugt nach einiger Zeit wieder ab. Die ungelöst bleibenden Äther enthalten nur noch wenig Carbinol und können nun entweder durch heißen Essigester oder durch siedendes Benzin voneinander getrennt werden. In diesen Agenzien ist nämlich der *Trityläther des cis-Resorcits löslich*, die *trans*-Verbindung dagegen kaum. Die ungelöst bleibenden Krystalle müssen über 190° schmelzen; ist das nicht der Fall, so muß die Extraktion mit Benzin oder Essigester wiederholt werden.

Digitized by Google

trans-Verbindung. In dem Rückstand liegt bereits das recht reine *trans*-Derivat vor. Es läßt sich aus Dekalin umlösen und schmilzt dann bei 199°. Der Stoff ist sehr schwer löslich in Wasser, Alkohol und Benzin, etwas leichter in Dekalin oder Nitrobenzol.

0,1117 g Subst.: 0,3599 g CO_2, 0,0688 g H_2O.

$C_{44}H_{40}O_2$	Ber.	C 87,95	H 6,72
	Gef.	„ 87,87	„ 6,89.

cis-Verbindung. Die bei der Reinigung des trans-Äthers gewonnene Essigester-Mutterlauge scheidet beim Erkalten große Mengen des *cis-Äthers* in kleinen Stäbchen aus, daneben meist Reste von *Triphenylcarbinol*, das in flachen Tafeln krystallisiert; von ihm befreit man durch nochmaliges Umlösen aus demselben Mittel. Stets empfiehlt es sich, die Krystallisation unter der Lupe zu verfolgen. Die reine *cis*-Verbindung schmilzt bei 144°. Sie ist schwer löslich in Wasser und Alkohol, leichter in Essigester oder Benzin.

0,1088 g Subst.: 0,3505 g CO_2, 0,0663 g H_2O.

$C_{44}H_{40}O_2$	Ber.	C 87,95	H 6,72
	Gef.	„ 87,86	„ 6,82.

7. Die stereoisomeren Resorcite.

a) *cis-Resorcit.*

Aus dem Diphenylurethan. 177 g des *cis-Resorcit-diphenylurethans* werden im Mörser mit 56 g (1 Mol) fein pulverisiertem Ätzkali gut verrieben und im Destillierkolben unter gewöhnlichem Druck erhitzt. Dabei geht nach einiger Zeit ein Gemisch von *Wasser* und *Anilin* über, dessen Siedetemperatur allmählich von etwa 130° auf über 170° ansteigt. Kommt kein Anilin mehr, so unterbricht man die Wärmezufuhr, läßt den Kolben auf 130° erkalten und destilliert dann im Vakuum weiter. Dabei erhält man den *cis-Resorcit* als dickes, farbloses Öl vom Siedep. $141°_{13}$, das in der Vorlage alsbald erstarrt. Das Rohprodukt (etwa 12 g) schmilzt von 70—80°. Nach dem Umlösen aus Essigester oder Aceton liegt der Schmelzpunkt scharf bei 83°.

Aus dem Ditrityläther. 30 g ($^1/_{20}$ Mol) des *cis-Resorcit-ditrityläthers* werden in 60 ccm Aceton suspendiert und mit

Digitized by Google

12 ccm *konz. Salzsäure* versetzt. Dieses Gemisch läßt man bei Zimmertemperatur stehen. Schon nach kurzer Zeit kann man an der sich verändernden Krystallform erkennen, daß die Reaktion begonnen hat. Sie ist nach 4 Stunden beendet. Der gebildete *Resorcit* befindet sich in Lösung, das *Triphenylcarbinol* ist größtenteils ungelöst. Nach dem Filtrieren wird die Acetonlösung durch Abblasen eingeengt. Dann wird durch Zusatz von etwa 20 ccm heißem Wasser der Rest des Carbinols ausgefällt und in der Hitze abgesaugt. Der gebildete *cis-Resorcit* wird durch Eindampfen der wäßrigen Lösung auf dem Wasserbade gewonnen. Er hinterbleibt als dickes Öl, das in der Kälte schnell fest wird. Auf diesem Wege wurden 5,1 g Rohprodukt (89 Proc. d. Th.)[1]) erhalten. Nach dem Umlösen aus Aceton zeigt das Diol den gleichen Schmelzpunkt wie das aus dem Phenylurethan gewonnene Produkt (83°).

Der cis-Resorcit schmeckt süß, ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, schwer in Benzin, Benzol und Äther. Mit Wasserdampf ist er nicht unerheblich flüchtig.[2])

0,1117 g Subst.: 0,2534 g CO_2, 0,1030 g H_2O.

$C_6H_{12}O_2$	Ber.	C 62,02	H 10,42
	Gef.	„ 61,87	„ 10,32.

b) *trans-Resorcit.*

Die Verseifung des *trans-Resorcit-ditrityläthers* wird wie die des cis-Isomeren mit *konz. Salzsäure in Aceton* vorgenommen, jedoch muß man zur Beendigung der Reaktion die Komponenten 10 (statt 4) Stunden lang aufeinander einwirken lassen. Beim Eindampfen der wäßrigen Lösung hinterbleibt in guter Ausbeute (95 Proc. d. Th.) ein schwach braun gefärbtes Öl, das im Gegensatz zum cis-Resorcit nicht fest wird. Es kann im Vakuum unzersetzt destilliert werden. Man erhält eine farblose, sirupöse Flüssigkeit vom Siedep. 142—143°$_{20}$. Beim Abkühlen erstarrt sie zu einer amorphen Masse.

---

[1]) An dem Rohprodukt wurden bisweilen hygroskopische Eigenschaften beobachtet. Sie müssen durch eine Beimengung verursacht werden; der reine Resorcit ist nicht hygroskopisch.

[2]) Näheres vgl. in der Dissertation Baumann, Braunschweig 1929.

Digitized by Google

0,1108 g Subst.: 0,2514 g CO_2, 0,1019 g H_2O.

$C_6H_{12}O_2$	Ber. C 62,02	H 10,42
	Gef. „ 61,88	„ 10,30.

8. Die Konfiguration der Resorcite.

Die Versuche zur Spaltung eines der isomeren Resorcite sollten zunächst über die *sauren Phtalsäure*-[1]) oder *Schwefelsäureester*[2]) geleitet werden. Sie führten bei den bisher zum Einsatz zur Verfügung stehenden relativ kleinen Materialmengen nicht zum Ziel.[3]) Die Versuche, mit *l-Menthylisocyanat* wurden gleichzeitig angesetzt:

5 g *cis-Resorcit* werden in einem mit Chlorcalciumrohr verschlossenen Kölbchen mit 17 g *l-Menthylisocyanat* 6 Stunden lang im Wasserbade erhitzt. Das Reaktionsgemisch ist dann zu einer fast festen, undurchsichtigen Masse erstarrt. Das Gefäß wird zerschlagen und der Inhalt nach möglichst feiner Zerkleinerung zweimal mit Benzin heiß ausgezogen. Als Rückstand hinterbleibt das *Urethan* in Form eines lockeren weißen Krystallpulvers vom Schmelzp. 156° (Fraktion I: 6,8 g). Die Benzinlaugen werden eingedampft und ergeben eine halbfeste, klebrige Masse. Sie wird zur Zersetzung unveränderten Isocyanats 4 Stunden lang mit Wasser erhitzt; nach dem Erkalten erstarrt die Substanz dann vollständig. Man löst sie in möglichst wenig heißem Alkohol und läßt zur Krystallisation stehen. Nach mehreren Stunden hat sich eine erhebliche Menge des *Urethans* ausgeschieden. Dieses zweite Produkt (Fraktion II: 4,7 g) ist etwas weniger rein als das erste. Es schmilzt von 148—153°; der Schmelzpunkt der Mischung lag bei 152—155°. Beide Produkte wurden im Halbschatten-Apparat auf ihr optisches *Drehungsvermögen* hin untersucht. Sie zeigten folgende Werte:

$$\text{Fraktion I: } [\alpha]_D^{17,5^\circ} = \frac{-\,6{,}02^\circ \cdot 100}{1 \cdot 9{,}44} = -\,63{,}77^\circ \text{ in Alkohol.}$$

$$\text{Fraktion II: } [\alpha]_D^{17,5^\circ} = \frac{-\,5{,}71^\circ \cdot 100}{1 \cdot 9{,}35} = -\,61{,}07^\circ \text{ in Alkohol.}$$

Das *cis-Resorcit-di-(l-menthylurethan)* löst sich in allen

[1]) Pickard u. Kenyon, Soc. **99**, 58 (1911) und **103**, 1937 (1913).
[2]) Derx, Rec. trav. Pays Bas **41**, 333 (1922).
[3]) Vgl. Anm. 2 auf S. 94.

Digitized by Google

Mitteln außer Wasser leicht auf. Aus sehr wenig Aceton krystallisiert es langsam in nicht gut ausgebildeten Aggregaten. Von *Tetrachlorkohlenstoff* wird es leicht aufgenommen; die beim Verrühren entstehende Lösung erstarrt jedoch nach kurzer Zeit zu einem Brei großer glänzender Krystalle einer *Molekülverbindung*. Bei Verwendung von 4 ccm Tetrachlorkohlenstoff auf 2 g rohes Urethan wurden 2,8 g des Additionsprodukts erhalten. Einen scharfen Schmelzpunkt besitzt es nicht, da es beim Erwärmen den Tetrachlorkohlenstoff allmählich wieder abgibt. Wird die Verbindung eine halbe Stunde auf 150° erhitzt, so erstarrt die geschmolzene Masse noch in der Hitze wieder und ist nunmehr vom Lösungsmittel frei. Das so erhaltene reine *Urethan* schmilzt bei 157°.

0,1017 g Subst.: 5,4 ccm N (18,0°, 746 mm).
$C_{28}H_{50}O_4N_2$ Ber. N 5,86 Gef. N 6,11.

Das *Drehungsvermögen* wurde für die oben erwähnten Fraktionen I und II nach der Reinigung beider über die Tetrachlorkohlenstoffverbindung erneut bestimmt:

$$\text{Fraktion I: } [\alpha]_D^{17,5^\circ} = \frac{-6{,}02 \cdot 100}{1 \cdot 9{,}30} = -64{,}73^\circ \text{ in Alkohol.}$$

$$\text{Fraktion II: } [\alpha]_D^{17,5} = \frac{-5{,}88^\circ \cdot 100}{1 \cdot 9{,}26} = -63{,}50^\circ \text{ in Alkohol.}$$

II ist offenbar noch nicht völlig rein.

cis-Resorcit aus cis-Resorcit-di-(l-menthylurethan).

6,5 g des *Menthylurethans* werden in 100 ccm Methanol gelöst und mit 2 g pulverisiertem *Ätzkali* im Bombenrohr 4 Stunden lang auf 100° erhitzt. Die Lösung wird dann vom ausgeschiedenen Kaliumcarbonat befreit und nach dem Verdampfen des Alkohols mit Wasser versetzt. Das bei der Spaltung entstandene *l-Menthylamin* scheidet sich dabei ölig ab; man entfernt es durch mehrmaliges Ausziehen der Lösung mit Äther vollständig. Darauf macht man mit Salzsäure genau neutral und dampft zur Trockene ein. Der Rückstand wird zur Lösung des *Resorcits* mehrmals mit heißem Essigester ausgezogen. Beim Verdampfen des Lösungsmittels erhält man 0,75 g des rohen Alkohols. Er schmilzt nach dem

Digitized by Google

Umlösen aus Aceton wieder bei 83°. Bei der Prüfung im Polarisationsapparat wurde er als *optisch völlig inaktiv* befunden.

9. Die Hydrierung des Phloroglucins.

Zur Hydrierung des *Phloroglucins* (126 g = 1 Mol) wurde derselbe Ni-Co-Cu-Katalysator (15 g) verwandt, der sich am Resorcin bereits bewährt hatte. Auch die übrigen Bedingungen waren völlig analog. Nach beendeter Hydrierung wurden Nebenprodukte und Lösungsmittel mit Wasserdampf verjagt und die erhaltene wäßrige Lösung vom Katalysator befreit. Dann dampfte man sie auf etwa 150 ccm ein. War die Hydrierung in Dekalin durchgeführt, so scheidet sich beim Erkalten bereits eine erhebliche Menge von Krystallen des *α-Phloroglucits* aus. Man saugt nach 24 Stunden ab und wäscht mit trockenem Aceton. Aus dem Filtrat gewinnt man beim Einengen im Vakuum und Anreiben mit Aceton noch eine kleinere Menge der gleichen Verbindung (insgesamt etwa 25 g). Aus der Aceton-Mutterlauge krystallisiert beim Stehen langsam die isomere *β-Verbindung* aus; von ihr wurden etwa 14 g Rohprodukt erhalten.

α-Phloroglucit.

Der *α-Phloroglucit* ist in Benzin, Benzol und Aceton schwer löslich; dagegen löst er sich in heißem Dekalin. Aus wenig Alkohol oder Wasser läßt er sich umkrystallisieren. Aus dem zuletzt genannten Lösungsmittel erhält man farblose Krystalle, die zwei Moleküle Wasser erhalten. Sie schmelzen bei etwa 110° unter Aufschäumen (Wasserabgabe) zusammen; die geschmolzene Masse erstarrt dann wieder und schmilzt erneut erst bei 184°. Auf dem Wasserbade wird das Krystallwasser unter Verwitterungserscheinungen allmählich abgegeben. Der wasserfreie Phloroglucit löst sich in wenig Wasser unter lebhafter Wärmeentwicklung; beim Erkalten erscheint die wasserhaltige Form. Der Geschmack des Alkohols ist deutlich süß.

3,394 mg Subst.: 6,820 mg CO_2, 2,800 mg H_2O. — 0,2221 g Subst. in 23,5 g Wasser: $\Delta = 0{,}141°$ (kryosk.).

$C_6H_{12}O_3$	Ber.	C 54,50	H 9,16,	Mol.-Gew. 132,1
	Gef.	C 54,80	H 9,23,	Mol.-Gew. 124,0.

Krystallwasserbestimmung: 5,8944 g wasserhaltige Substanz lieferten 4,6249 g wasserfreie Verbindung.

$C_6H_{12}O_3 \cdot 2H_2O$ Ber. H_2O 36,03 Gef. H_2O 36,26.

Triacetylderivat. Der *α-Phloroglucit* wird mit *Acetanhydrid* und einem Tropfen Schwefelsäure auf 160° erhitzt, bis fast alles Anhydrid verdampft ist. Beim Erkalten scheidet sich das *Triacetat* ab. Es läßt

Digitized by Google

sich aus Benzin umlösen; der Schmelzpunkt der farblosen Krystalle liegt bei 79°.

0,0960 g Subst.: 0,1964 g CO_2, 0,0624 g H_2O.

$C_{12}H_{18}O_6$	Ber.	C 55,79	H 7,03
	Gef.	„ 55,80	„ 7,27.

Triphenylurethan. 1,3 g wasserfreier α-*Phloroglucit* werden in 10 ccm heißem Dekalin gelöst und mit 3,6 g *Phenylisocyanat* zum Sieden erhitzt. Nach kurzer Zeit erstarrt die Mischung plötzlich, da das in Dekalin unlösliche Reaktionsprodukt auskrystallisiert. Aus Nitrobenzol umgelöst, zeigt es einen Schmelzp. von 245°. Die Substanz ist leicht löslich in Aceton, Chloroform oder Eisessig, schwer in Benzol, Alkohol oder Toluol, sehr schwer in Wasser, Benzin oder Tetrachlorkohlenstoff.

0,1579 g Subst.: 12,1 ccm N (17,0°, 758,5 mm).

$C_{27}H_{27}O_6N_3$ Ber. N 8,60 Gef. N 8,90.

β-*Phloroglucit.*

Das Rohprodukt der *β-Verbindung* wird aus Alkohol umgelöst; sie schmilzt rein bei 145°. In Wasser ist sie leichter löslich als das α-Isomere, aber ähnlich wie dieses schwer löslich in Benzin, Benzol und Aceton. Enthält aber das Aceton auch nur geringe Mengen Wasser, so steigt die Löslichkeit des Stoffes bedeutend. Die Krystalle haben sargähnliche Form. Im Gegensatz zur α-Verbindung besitzen sie keinen Wassergehalt.

0,1057 g Subst.: 0,2123 g CO_2, 0,0835 g H_2O.

$C_6H_{12}O_3$	Ber.	C 54,51	H 9,16
	Gef.	„ 54,78	„ 8,84.

Triphenylurethan. Bereitung wie für die α-Verbindung beschrieben. Das *Urethan* krystallisiert jedoch wegen seiner größeren Löslichkeit in Dekalin nicht schon in der Hitze aus, sondern erst beim Erkalten des Reaktionsgemisches. Es läßt sich aus Benzol umlösen und schmilzt bei 160°. In Aceton und Eisessig ist es leicht löslich, schwer in Benzol, sehr schwer in Wasser oder Benzin.

0,1687 g Subst.: 12,4 ccm N (17,0°, 749 mm).

$C_{27}H_{27}O_6N_3$ Ber. N 8,60 Gef. N 8,53.

Der *Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft*, die die vorliegende Untersuchung wesentlich unterstützte, sprechen wir unseren ergebensten Dank aus.

(Abgeschlossen am 5. Dezember 1929.)

Digitized by Google

Änderungen des Molekülbaus bei chemischen Reaktionen I: Über thermische Zersetzung von Estern und dabei eintretende Umlagerungen;

von *Walter Hückel, Otto Neunhoeffer, Achim Gercke* und *Ernst Frank.*

[Aus dem Allgemeinen chemischen Universitätslaboratorium Göttingen und dem chemischen Institut der Universität Freiburg i. Br.]

Mit 2 Figuren im Text.

(Eingelaufen am 2. November 1929).

Die Untersuchungen, die mit den folgenden Arbeiten in Angriff genommen worden sind, sollen einen Beitrag zu der Frage liefern, in welchem Umfange die Regeln gültig sind, von denen man bei der Ermittelung der Konstitution durch chemische Reaktionen Gebrauch macht. Die Ableitung der Formeln gründet sich auf das Prinzip der Substitution und das diesem nachgebildete Prinzip der Addition an mehrfache Bindungen, sowie der Umkehrung dieses Prinzips bei Abspaltungsreaktionen; es wird also ganz allgemein die denkbar geringste Strukturänderung bei chemischen Reaktionen vorausgesetzt. Diese Annahme ist in weitem Umfange als brauchbar erwiesen worden, aber von Allgemeingültigkeit kann keine Rede sein. Vollständig versagt die Regel der möglichst geringen Strukturänderung bei Voraussagen über die räumliche Konfiguration der durch Substitution bzw. Addition entstehenden Verbindungen; die Erscheinung der Waldenschen Umkehrung zeigt, daß der neue Substituent nicht an die Stelle seines Vorgängers zu treten braucht, und nach den bisherigen Erfahrungen ist dabei Platzwechsel am gleichen Atom ebenso häufig wie „normale" Substitution. Aber auch wenn man die Vorgänge an dem von der Reaktion unmittelbar betroffenen Atom aus dem Spiele läßt, gibt es Substitutions-, wie Additions- und Abspaltungsreaktionen, bei denen das gefaßte Endprodukt

Digitized by Google

der Reaktion nicht den Bau des Stoffes besitzt, von dem man ausgegangen ist, sei es, daß sich eine Doppelbindung verschoben hat, daß ein neu eintretender Substituent an einem andern Atom sitzt als sein Vorgänger, sei es, daß gar das Kohlenstoffgerüst ein anderes geworden ist. Allerdings sind diese Fälle im allgemeinen seltener als die „normalen" Vorgänge. Wenn jedoch bestimmte Eigentümlichkeiten des Molekülbaus vorliegen, können einige von diesen Umlagerungen zur Regel werden und verlaufen so gleichartig, daß man den möglichen Reaktionsverlauf ebensogut vorhersagen kann wie bei Reaktionen, die keine Änderung des Kohlenstoffgerüsts im Gefolge haben. Das gilt zumal für die Pinakolin- und Retropinakolin-, die Benzilsäure- und die Beckmannsche Umlagerung. Andere Reaktionen verlaufen dagegen nach den bisher über sie vorliegenden Erfahrungen scheinbar wahllos bald überwiegend unter Erhaltung des Kohlenstoffgerüsts, bald unter Umlagerung, je nach der Eigenart des reagierenden Moleküls, so daß sie für Konstitutionsbestimmungen unbrauchbar sind, wie die Umsetzung gewisser primärer Amine mit salpetriger Säure[1]), einige Grignardsche Synthesen[2]) u. a. Es erhebt sich daher die wichtige Frage, ob es überhaupt Reaktionen gibt, welche absolut verläßlich sind, d. h. stets, unabhängig vom Bau des Moleküls, an dem sie sich vollziehen, das Kohlenstoffgerüst unverändert lassen. Man kann das Problem auch noch weiter fassen und allgemein danach fragen, wie und inwieweit sich ein chemischer Eingriff in das Gefüge des Moleküls auf das Atom beschränkt, bei dem er zunächst angreift, und inwieweit er die räumliche und strukturelle Anordnung der übrigen Atome in Mitleidenschaft zieht. Dabei wird man, um nach der ersten Orientierung tiefer einzudringen, versuchen müssen, die zunächst als Brutto-

---

[1]) V. Meyer, B. 9, 535 (1876); 10, 132 (1877); Freund, B. 23, 2865 (1890); 24, 2150, 3350 (1891); Demjanow, C. 1903, I, 818; C. 1904, I, 1214; Wallach, A. 353, 331 (1907).

[2]) Godchot und Cauquil, C. r. 186, 375, 955 (1928); Vavon und Mitchovitch, C. r. 186, 702 (1928).

Digitized by Google

vorgang sich darbietende Reaktion in ihren einzelnen Stufen experimentell zu fassen, wenn überhaupt Stoffe im üblichen chemischen Sinne als Zwischenprodukte in Frage kommen, was man von vornherein nicht wissen kann.

Die beiden Erscheinungen: Waldensche Umkehrung und innermolekulare Umlagerung erscheinen danach als Teilprobleme der allgemeinen Frage nach Änderungen des Molekülbaus bei chemischen Reaktionen: Bei der Untersuchung der Waldenschen Umkehrung beschränkt man sich auf die Vorgänge, bei denen sich nur eine Änderung der Anordnung an dem einen Atom bemerklich macht, an dem die Reaktion angreift, bei der Untersuchung der innermolekularen Umlagerungen hat man mit Änderungen in der Verkettung mehrerer Atome, die oft nach mehreren Richtungen möglich sind, zu rechnen. Es ist zu erwarten, daß sich unter Umständen beide Teilfragen nicht ungetrennt voneinander bearbeiten lassen, und auf mögliche Zusammenhänge ist bereits von Meisenheimer[1]) einmal hingewiesen worden.

Die interessante Kernfrage, in welchen Richtungen eine Reaktion in einem vorgegebenen Fall verlaufen kann, und in welchen Geschwindigkeitsverhältnissen die möglichen Konkurrenzreaktionen zueinander stehen, soll vorläufig nicht erörtert werden. Denn es fehlt dazu noch eine genügend umfangreiche, systematische Ansammlung von Beobachtungsmaterial. Es handelt sich vielmehr zunächst darum, wichtige, häufig zur Aufklärung der Konstitution benutzte Reaktionen daraufhin zu untersuchen, inwieweit bei ihnen das Prinzip der möglichst geringen Strukturänderung gewahrt bleibt. Dabei erhöht man gleichzeitig das für spätere Beobachtungen notwendige Versuchsmaterial — ob und wann dieses einmal unter einen einheitlichen Gesichtspunkt zu bringen ist, wird sich erst nach der Bearbeitung einer genügenden Zahl von Beispielen sagen lassen.

Bei der Bearbeitung des umfangreichen Problems ist

---

[1]) Vortrag auf der Tagung der südwestdeutschen Chemiedozenten in Freiburg 1929.

Digitized by Google

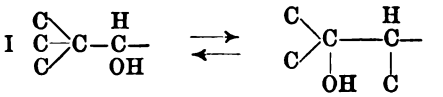
eine geeignete Auswahl der Reaktionen wie der Stoffsysteme zu treffen. Diese kann nach verschiedenen Gesichtspunkten erfolgen. Entweder knüpft man an bereits vorliegende, in irgendeiner Hinsicht auffallende Beobachtungen an, oder man trifft die Wahl nach dem Prinzip der möglichsten Einfachheit der Reaktionen und der Molekülstruktur. Dabei wird man möglichst den Anschluß an bereits ausführlich studierte Umlagerungsreaktionen zu gewinnen suchen, um für später systematisch gesammeltes Material zur Hand zu haben.

Von dem letztgenannten Standpunkt aus wurde die in den nachfolgenden Arbeiten zunächst untersuchte Reaktion der Wasserabspaltung aus Alkoholen gewählt. Denn bei der beststudierten und von Meerwein in ihrem Verlauf weitgehend geklärten Umlagerungsreaktion, der Pinakolin- und Retropinakolinumlagerung, geht im Endeffekt eine Wasserabspaltung vor sich. Diese Wasserabspaltung besteht, im Grunde genommen, in einer thermischen Zersetzung von Estern der Alkohole, und zwar meist von Estern starker Mineralsäuren. Letztere sind nach den Untersuchungen von Meerwein wegen leicht erfolgender Ionisierung besonders zu Isomerisationen befähigt; das nur drei Substituenten an einem Kohlenstoffatom tragende Kation ist dabei das die Umlagerung erleidende Zwischenprodukt. Damit erscheint hier das Prinzip der möglichst geringen Strukturänderung für die primär erfolgenden Abspaltungs- und Additionsvorgänge gewahrt. Bisher sind solche unter Strukturänderung verlaufende Isomerisationen von Estern jedoch nur bei Alkoholen vom Pinakolintypus — quartäres Kohlenstoffatom benachbart zu dem eine sekundäre Alkoholgruppe tragenden Kohlenstoffatom (I) — beobachtet worden, und bei den Pinakonen — zwei tertiäre Hydroxyle an benachbarten Kohlenstoffatomen (II).

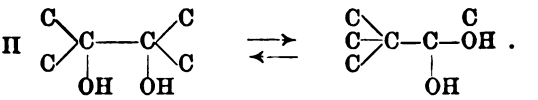
Dementsprechend treten die gleichen Umlagerungen auch bei der thermischen Zersetzung der Ester dieses Typus ein.

Überlegt man sich nun, daß die hier beobachtete Isomerisation der Ester starker Säuren nicht auf Verbindungen

Digitized by Google



I beim Isobornylchlorid — Camphenhydrochlorid



II beim α′-Campherdichlorid — α-Campherdichlorid[1])

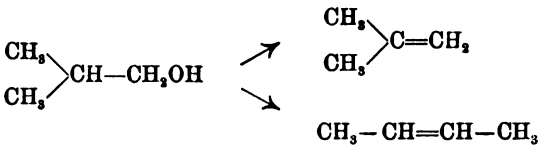
vom Pinakolintypus beschränkt zu sein braucht, sondern im Prinzip — wenn auch vielleicht im allgemeinen mit geringerer Geschwindigkeit — bei den entsprechenden Estern *aller* Alkohole vor sich gehen kann, so sollte man erwarten, daß sie auch hier unter geeigneten Umständen zu Umlagerungen Veranlassung gibt. Diese für die Isomerisation günstigen Umstände werden stets dann vorhanden sein, wenn die Geschwindigkeit aller anderen Reaktionen, die der in Frage kommende Ester eingehen kann — also z. B. der thermischen Zersetzung —, auf Grund des besonderen Baues des Moleküls oder geeignet gewählter Versuchsbedingungen verhältnismäßig gering ist. Bei den Pinakolinalkoholen ist das Verhältnis Isomerisationsgeschwindigkeit unter Strukturänderung (K_i): Geschwindigkeit der zu normalen Produkten führenden thermischen Zersetzung (K_n) besonders groß. Wenn bei andern Alkoholen Umlagerungen bisher fast nie beobachtet worden sind, so kann dies daran liegen, daß bei ihnen das Verhältnis $K_i : K_n$ sehr klein ist; theoretisch müßte man aber auch dann eine, wenn auch nur sehr kleine Menge des Produktes finden, dessen Bildung eine innermolekulare Umlagerung vorhergegangen ist.

Nun sind freilich die systematischen Untersuchungen, die dazu geführt haben, das Prinzip der möglichst geringen Strukturänderung bei chemischen Reaktionen als brauchbar anzuerkennen, im allgemeinen nicht mit einer Genauigkeit durchgeführt worden, die erforderlich wäre, um die Grenzen der Anwendbarkeit dieses Prinzips festzulegen. Denn den

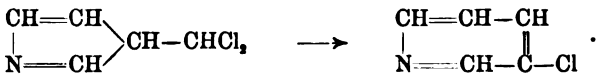
[1]) Meerwein, A. **435**, 190 (1924).

Digitized by Google

Forschern, die vor mehr als 50 Jahren dies Problem bearbeitet haben — es sind vor allem Erlenmeyer und Butlerow — standen nicht die nötigen feinen analytischen Hilfsmittel zu Gebote, die es ermöglichen, nahe verwandte Isomere nebeneinander nachzuweisen oder gar zu trennen. Es erscheint daher durchaus möglich, daß ihnen von Umlagerungsreaktionen herrührende Produkte, selbst wenn sie in einer Menge bis zu 25 Proc. den Hauptprodukten beigemengt gewesen, entgangen sind. Nur ein Fall ist bisher beschrieben worden, wo ein nicht dem Pinakolintypus angehörender Alkohol unter Änderung des Kohlenstoffgerüstes Wasser abspaltet: Der Isobutylalkohol gibt bei der Behandlung mit Chlorzink neben Isobutylen viel symm-Dimethyl-äthylen, wobei die verzweigte Kette in eine normale übergeht[1]):



Dieser Umwandlung ganz analog erscheint die Ringerweiterung, mit der die Chlorwasserstoffabspaltung des ω, ω'-Dichlor-β-methyl-pyrrols verbunden ist; letzteres entsteht bekanntlich[2]) als Zwischenprodukt bei der Umsetzung von Pyrrol mit Chloroform und Alkaliäthylat:



Auch an die isomerisierende Wirkung der Jodwasserstoffsäure kann in diesem Zusammenhange erinnert werden.[3])

Das sind alles wichtige Fingerzeige dafür, daß durchaus nicht nur bei den Pinakolinalkoholen $K_i : K_n$ groß zu sein braucht.

---

[1]) Le Bel u. Green, Bl. [2], **29**, 306 (1878).

[2]) Plancher und Ponti, R. A. L. [5] **18**, II, 469 (1909); weitere Literatur bei Ciamician, B. **37**, 4233 (1904).

[3]) Z. B. Markownikoff, A. **302**, 37 (1898).

Digitized by Google

Die durch dieses Verhältnis $K_i : K_n$ bestimmten Grenzen des Prinzips der möglichst geringen Strukturänderung bei einer genügenden Anzahl von Wasserabspaltungsreaktionen genauer kennen zu lernen, als es bisher der Fall ist, erscheint nicht nur vom theoretischen, sondern auch vom praktischen Standpunkt aus wichtig. Denn bei der Konstitutionsaufklärung zahlreicher Naturstoffe vermag man dadurch eine Bresche in das Gefüge des Moleküls zu schlagen, daß man durch Abspaltung von Wasser (oder auch von Ammoniak bei Aminen) eine leicht angreifbare Doppelbindung ins Molekül bringt. Ferner gilt das, was hier für die Abspaltungsreaktionen ausgeführt worden ist, auch für deren Umkehrung, die Additionen an Doppelbindungen, die ebenfalls viel bei Konstitutionsbestimmungen benutzt werden. Es werden dabei die Isomerisierungsvorgänge begünstigt sein, wenn die Geschwindigkeit der Additionsreaktion K_a verhältnismäßig klein, $K_i : K_a$ mithin groß ist.

Die in den nachfolgenden Arbeiten ausgeführten Untersuchungen haben nicht das einfachste Kohlenstoffgerüst, bei dem eine innermolekulare Umlagerung denkbar ist, das des Butans, zum Gegenstand; die Untersuchungen darüber sind noch im Gange. Vielmehr sind zunächst einige Fälle, bei denen auf Grund von anderer Seite durchgeführter Arbeiten eine Umlagerung als möglich erschien, aufgegriffen und geklärt. Diesen das eigentliche Thema betreffenden Untersuchungen soll eine Studie über das Verhalten der Ester der verschiedensten Säuren bei der Verseifung beigegeben werden, aus der hervorgeht, an welcher Stelle des Estermoleküls die Hydrolyse angreift; hierbei werden gleichzeitig einige Beobachtungen über die thermische Beständigkeit verschieden gebauter Ester mitgeteilt, die für die Beurteilung des Verlaufs der Wasserabspaltungsreaktionen von Bedeutung sind. Es ergeben sich darüber hinaus wichtige Beziehungen zwischen dem räumlichen Bau der Moleküle und ihrer Stabilität. Die Diskussion dieser Resultate erfolgt nach Mitteilung der Versuchsergebnisse am Schluß.

Digitized by Google

I. Wasserabspaltung aus cis- und trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol. (Über eine vermeintliche Isomerie beim Dicyclohexyl.)

Von Walter Hückel und Otto Neunhoeffer.[1])

Aus dem o-Cyclohexyl-cyclohexanol haben Schrauth und Görig[2]) durch Wasserabspaltung mittels Zinkchlorid und nachfolgende Hydrierung mit Nickel unter Wasserstoffdruck bei 180° einen gesättigten Kohlenwasserstoff von der Formel $C_{12}H_{22}$ erhalten, den sie nach seiner Bildungsweise als *Dicyclohexyl* ansprechen. Durch Fraktionieren unter gewöhnlichem Druck wollen sie daraus drei verschiedene isomere Kohlenwasserstoffe erhalten haben, in denen nach ihrer Meinung neuartige Isomere des Dicyclohexyls vorliegen. Sie erklären die Isomerie mit Hilfe der Sachse-Mohrschen Modelle des Cyclohexanrings, die verschiedene Raumformen des Cyclohexans, eine starre und eine bewegliche, voraussehen lassen. Normalerweise sind diese beiden Formen, wie besonders Mohr betont hat, so leicht ineinander überführbar, daß man keine auf solcher Raumisomerie beruhenden Isomerien findet. Nach Schrauth sollen die beiden Formen im Dicyclohexyl so weitgehend stabilisiert sein, daß ein Umklappen von der einen in die andere Form nur selten stattfindet und somit Isomere längere Zeit existenzfähig sind. Er sieht dabei mindestens drei verschiedene Formen des Dicyclohexyls als möglich an, ohne sie näher zu beschreiben; vermutlich meint er die Anordnungen starr + starr, starr + beweglich und beweglich + beweglich. Nun hat er auch drei Isomere gefunden: Ein Ergebnis, das immer[3]) wieder als ein Beweis für die räumliche Struktur des Cyclohexanrings angeführt wird. Sieht man sich aber die Modelle genauer an, so erkennt man, daß, wenn die starre Form wirklich festgelegt ist, *sechs* Formen des Dicyclohexyls als stabile Isomere gleich-

[1]) Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. 1929.

[2]) B. **56**, 1900 (1923).

[3]) Boëseken, B. **56**, 2413 unten (1923); Zelinsky, B. **59**, 2590 (1926); Ipatiew, C. r. **181**, 793 (1925); Wigthman, Soc. **1926**, 2542; Vavon, Bl. **45**, 293 (1929).

Digitized by Google

berechtigt sind. Denn es gibt bei der starren Form zwei verschiedene Arten von Valenzen, solche, die senkrecht zum Ring stehen, und solche, die ungefähr in der Ebene des Ringes liegen. Daher gibt es für die Kombination starr + starr drei Möglichkeiten der Verkettung (senkrechte an senkrechte, senkrechte an ebene, ebene an ebene Valenz) und für die Kombination starr-beweglich zwei (der bewegliche Ring befindet sich einmal an der senkrechten, das andere Mal an der ebenen Valenz). Wenn es natürlich auch sein kann, daß nicht gleich alle möglichen Formen als Isomere gefunden werden, so ist doch jedenfalls vorläufig wenigstens von einer genauen Übereinstimmung zwischen Theorie und Experiment nicht die Rede. Viel mehr als das Nichtauffinden der drei noch fehlenden Isomeren muß aber wundernehmen, daß die drei aufgefundenen Isomeren die Destillation unter gewöhnlichem Druck unverändert überdauern; immerhin kann Schrauth anführen, daß sich die von ihm dargestellten Kohlenwasserstoffe im Laufe der Zeit von selbst in den am höchsten siedenden, stabilsten umlagern (das von ihm auch zur Umlagerung benutzte Aluminiumchlorid kann bekanntlich Kohlenwasserstoffe weitgehend verändern, so daß die Ergebnisse dieser Versuche nichts besagen). Schrauth hat auffallenderweise keinen Versuch gemacht, seine Isomeren in krystallisiertem Zustande zu erhalten, wodurch ein Vergleich mit dem bisher bekannten, stets — d. h. soweit Schmelzpunktsbestimmungen vorliegen — bei etwa + 3° schmelzenden Dicyclohexyl erleichtert worden wäre. Er sieht lediglich die nach seiner Ansicht wenig übereinstimmenden Siedepunkte der von anderen Forschern dargestellten Dicyclohexyle als einen Anhaltspunkt für deren Verschiedenheit an (vgl. Tabelle S. 108):

In Wirklichkeit fällt in dieser Übersicht nur der Wert Wallachs heraus. Wie aber aus der Inauguraldissertation von Alexander Wacker[1]) hervorgeht, ist der Analyse zufolge der nur in einer Menge von 2 g erhaltene Kohlenwasserstoff gar nicht rein gewesen, sondern hat noch ungesättigten Kohlenwasserstoff enthalten (C 87,0 u. 87,3

[1]) Göttingen 1908.

Digitized by Google

Präparate von	Methode	Siedep.	mm	d_4^{20}	n_D^{20}	Schmelzpunkt
Kursanoff[1])	Würtz	234 —236	752	0,8644	—	in Kältemischung fest
*Zelinsky[2])	Würtz	239,5—240	—	0,8847	1,4800	—
Wallach[3])	Cyclohexyl-cyclohexenol + HJ . .	227	738	0,869	1,4766	—
Sabatier I[4])	1,1-Cyclohexyl-cyclohexanol, $-H_2O$, hydriert	234	—	—	—	—
Sabatier II[4])	Diphenyl → Phenylcyclohexan → Dicyclohexyl, Hydrierung in Dampfform	233	—	—	—	+ 4
Ipatiew I[5])	Diphenyl bei 260° u. 191 Atm. hydriert	240 —241	—	—	—	in Schnee fest
Ipatiew II[6])	Cyclohexyl-cyclohexanol-gemisch + H_2 mit Al_2O_3 + CuO bei 290° . . .	237 —238,5	—	0,8835	—	—
Ipatiew III[6])	Diphenylenoxyd + H_2 mit Ni_2O_3 bei 290°	236 —237,5	—	0,8919	—	—
Mascarelli[7])	Wie Sabatier II	236 —238	757,5	—	—	+ 2,75
Ranedo[8])	Diphenyl nach Willstätter hydriert	234 —236	750	—	—	—
Hell u. Schaal[9])[10])	Cyclohexyljodid + Mg	234	—	—	—	+ 4
Schrauth I	—	219 —221,5	750	0,8809	1,47758	—
Schrauth II	—	227 —228	750	0,8797	1,47736	—
Schrauth III	—	235 —237	750	0,8818	1,47795	—

[1]) Ж **34**, 222 (1902). [2]) B. **59**, 2589 (1926). [3]) B. **40**, 70 (1907).
[4]) C. r. **154**, 1390 (1912). [5]) B. **40**, 1286 (1907).
[6]) C. r. **181**, 793 (1925). Erst nach Erscheinen der Schrauthschen Arbeit veröffentlicht.
[7]) Mascarelli u. Vecchiotti, Atti R. Accad. dei Lincei Roma [5] **19**, II, 410 (1910); C. **1911**, I, 75.
[8]) Ranedo u. León, Anales soc. espan. Fis. Amin. **21**, 270 (1923); C. **1924**, I, 768.
[9]) B. **40**, 4164 (1907). [10]) Vgl. auch Borsche u. Lange, B. **38**, 2769 (1905); J. v. Braun, B. **55**, 364 (1922).
*) Erst nach Erscheinen der Schrauthschen Arbeit veröffentlicht.

Digitized by Google

statt 86,64, H 12,15 u. 12,25 statt 13,34). Ferner ist nicht, wie B. 40,70 angegeben, das Cyclohexyl-cyclohexanol mit HJ reduziert worden, sondern das Cyclohexyl-cyclohexenol vom Schmelzp. 31° (das -anol hat nach Wallach den Schmelzp. 42°). Daher hat für irgendwelche Vergleiche der Wallachsche Kohlenwasserstoff auszuscheiden.

Das Dicyclohexyl von Ipatiew besitzt einen ungewöhnlich hohen Siedepunkt. Leider hat Ipatiew es versäumt, den Druck anzugeben. Da seine Arbeit vom 15. 2. 1907 datiert ist und er bei Winterkälte gearbeitet hat, ist es wahrscheinlich, daß die Versuche Ende Januar 1907 gemacht sind. Damals herrschte aber ungewöhnlich hoher Barometerstand (am 23. 1. 1907 fast 800 mm in der Gegend zwischen Petersburg und Riga), und so wird der hohe Siedepunkt leichter verständlich.

Schließlich ist nur noch das Dicyclohexyl Zelinskys, das erst nach dem Erscheinen der Schrauthschen Arbeit dargestellt worden ist, durch seine hohe Dichte ausgezeichnet, die aber, wie später noch gezeigt werden wird, die einzige richtige Dichteangabe ist; ungewöhnlich hoch ist die Dichte des Dicyclohexyls III von Ipatiew.

Der Unterschied der drei von Schrauth gefundenen Isomeren drückt sich im wesentlichen im Siedepunkt aus. Außer diesen drei aus o-Cyclohexyl-cyclohexanol gewonnenen Kohlenwasserstoffen hat Schrauth noch aus dem krystallisierten cis- wie trans-p-Cyclohexyl-cyclohexanol nach dem gleichen Verfahren Dicyclohexyl dargestellt, das einheitlich bei 227—228° sieden soll, von dem er aber weiter keine physikalischen Konstanten angibt, die einen Vergleich mit II ermöglichen würden. Weil Schrauth nur aus der o-Verbindung die 3 Isomeren bekommt, hält er es für möglich, daß das o-Cyclohexyl-cyclohexanol, das ihm als Ausgangsmaterial dient, bereits ein Gemisch von Isomeren mit verschiedenen Formen des Cyclohexanrings ist. Irgendeinen Trennungsversuch hat er an der allen Krystallisationsversuchen trotzenden Substanz, die er durch Hydrierung von o-Cyclohexyl-phenol erhalten hat, nicht unternommen; auch hat er kein charakteristisches Derivat hergestellt. Während er aus diesem „Gemisch" einen uneinheitlichen ungesättigten Kohlenwasserstoff erhält, dessen Uneinheitlichkeit er z. T. auf „fluktuierende Doppelbindungen", z. T. auf Cyclohexanringisomerie, zurückführt[1]), liefert ihm das

[1]) Der Beweis der Uneinheitlichkeit wird nur durch den Siedepunkt geführt.

Digitized by Google

„einheitliche" o-Cyclohexyl-cyclohexanol vom Schmelzp. 42° einen „einheitlichen" ungesättigten Kohlenwasserstoff, der sich im Laufe der Zeit in das von Wallach beschriebene Δ_1-Cyclohexyl-cyclohexen mit genau (!) denselben physikalischen Konstanten umlagern soll.[1]) Irgendwelche Versuche, die Lage der Doppelbindung festzustellen, liegen nicht vor.

Die Möglichkeit einer Strukturänderung faßt Schrauth also gar nicht ins Auge. In dieser Richtung erscheint mithin eine kritische Prüfung notwendig. Sie erstreckt sich auf folgende Punkte:

1. Darstellung reinen Dicyclohexyls nach verschiedenen Methoden.
2. Darstellung einheitlicher, krystallisierter, über Derivate gereinigter Ausgangsmaterialien nach verschiedenen Methoden, Untersuchung der Eigenschaften des reinen cis- und reinen trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanols.
3. Wasserabspaltung nach der von Schrauth angegebenen Vorschrift aus dem cis- wie dem trans-Isomeren und nachfolgende Hydrierung; Feststellung der Einheitlichkeit des entstehenden gesättigten Kohlenwasserstoffs durch physikalische Konstanten, Vergleich mit den nach 1. hergestellten Dicyclohexylen.
4. Feststellung der Einheitlichkeit der ungesättigten Kohlenwasserstoffe und Konstitutionsaufklärung durch Abbau.

Die Versuchsergebnisse sind folgende.

1. *Reines Dicyclohexyl* wurde aus Diphenyl gewonnen, das einmal aus Brombenzol nach Fittig (I), das andere Mal aus Benzol durch pyrogene Kondensation (II) erhalten worden war; das Diphenyl wurde in Eisessiglösung mit Platin hydriert. Seine Eigenschaften finden sich weiter unten bei der vergleichenden Zusammenstellung verzeichnet. Der Schmelzpunkt stimmt mit dem anderer, nach ganz anderen Methoden von anderen Forschern gewonnenen Proben genügend überein. Seine Dichte ist gleich der des Präparats von Zelinsky, alle anderen Forscher haben z. T. viel zu niedrige Dichten gefunden (vgl. darüber den experimentellen Teil).

2. *Reines cis- und trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol* hat bereits Vavon[2]) dargestellt:

[1]) Die unmittelbar nach der Darstellung beobachteten Werte werden nicht angegeben. [2]) Vavon, Bl. [4] 39, 1138 (1926).

Digitized by Google

Die cis-Form durch katalytische Hydrierung des Cyclohexyl-cyclohexanons, wie des o-Oxydiphenyls nach Willstätter, die trans-Form durch alkalische Reduktion des Cyclohexyl-cyclohexanons und durch Umlagerung der cis-Form mit Natrium, und beide Isomeren über Derivate gereinigt. Die cis-Form hatten schon früher Ranedo und León[1]) durch katalytische Hydrierung des o-Oxydiphenyls nach Willstätter erhalten. Die Angaben von Vavon über die reinen Verbindungen und deren Derivate konnten in jedem Punkte bestätigt werden. Die Darstellung erfolgte der Sicherheit halber nach mehreren Methoden, die mit Ausnahme der alkalischen Reduktion von den in der Literatur angegebenen Methoden verschieden waren.

cis-Cyclohexyl-cyclohexanol, Schmelzp. 63°;

1. aus o-Cyclohexyl-cyclohexanon durch Hydrierung in saurer Lösung nach Skita,

2. aus o-Oxydiphenyl durch Hydrierung in saurer Lösung nach Adams.

trans-Cyclohexyl-cyclohexanol, Schmelzp. 52°;

1. aus o-Cyclohexyl-cyclohexanon durch alkalische Reduktion,

2. u. 3. aus trans-o-Cyclohexenyl-cyclohexanol, Schmelzp. 42°[2]), durch Hydrierung mit Palladium-Tierkohle, sowie mit Platinoxyd nach Adams.

Alle Alkohole wurden über Derivate gereinigt.

Die reinen cis-trans-Isomeren geben Gemische, die bis 40° herab schmelzen. Dieser Schmelzpunkt kommt sowohl einem Gemisch von 50 Proc. cis mit 50 Proc. trans, wie einem Gemisch von 30 Proc. cis mit 70 Proc. trans zu. Gemische dazwischen liegender Zusammensetzung, mit einem Gehalt von 30—50 Proc. trans, sind auf keine Weise zum Krystallisieren zu bringen.

Für das als charakteristisches Derivat des o-Cyclohexylcyclohexanols dargestellte *Phenylurethan* wird gewöhnlich 117° angegeben.[3])

Für die Phenylurethane der krystallisierten Alkohole gibt dagegen Vavon an: cis 148°, trans 132°; wir fanden cis 153°, trans 136°. Gemische von beiden schmelzen bis 108° (70 Proc. cis, 30 Proc. trans) herab. Wallach findet für das aus seinem krystallisierten Cyclohexyl-cyclohexanol vom Schmelzp. 42° bereitete Urethan den Schmelzpunkt 117°; aus den im experimentellen Teil wiedergegebenen Schmelz-

---

[1]) Ranedo u. León, Anales soc. espan. Fis. Quin. 22, 222 (1923); C. 1924, I, 835.

[2]) Wallach gibt 34—35° an; A. 381, 97 (1911).

[3]) Wallach, A. 381, 95 (1911); J. v. Braun, B. 55, 3792 (1922). Der von Bedos [C. r. 177, 958 (1924)] angegebene Schmelzp. 108—112° bzw. 122—128° kommt dem Phenylurethan eines unreinen Cyclohexyl-cyclopentylcarbinols zu [Vavon, C. r. 186, 702 (1928)].

Digitized by Google

kurven ergibt sich, daß die Werte für den Alkohol wie für sein Derivat auf die Zusammensetzung 75 Proc. trans, 25 Proc. cis passen.

Da wir trotz der Variation der Darstellungsmethoden immer dieselben reinen, von Vavon beschriebenen Alkohole gefunden haben, und trotz sorgfältigen Suchens auch aus den nicht zur Krystallisation zu bringenden Anteilen des o-Cyclohexyl-cyclohexanols nie etwas anderes als Derivate der reinen cis- und trans-Form bekommen haben, oder Stoffe, die man zwanglos als außerordentlich schwer trennbare Gemische der beiden Formen auffassen kann — auch alle sich widersprechende Literaturangaben lassen sich in diesem Sinne deuten —, so glauben wir uns in Übereinstimmung mit Vavon zu der Aussage berechtigt, daß längere Zeit existenzfähige Isomere des o-Cyclohexyl-cyclohexanols als selbständige Individuen außer der cis- und trans-Form nicht vorkommen; ein vollständig abschließender Beweis für die Nichtexistenz *labiler* Isomerer, die sich bei der Darstellung von Derivaten umlagern können, ist freilich nicht erbracht, aber für die weiteren Untersuchungen insofern belanglos, als sich diese aller Voraussicht nach bei der Wasserabspaltung wie die stabilen cis- und trans-Formen verhalten würden.

3. *Die Wasserabspaltung* aus dem *cis*-o-Cyclohexyl-cyclohexanol, Schmelzp. 63°, mit Zinkchlorid bei 180° verläuft quantitativ. Die Hydrierung des entstandenen Kohlenwasserstoffs gibt ein Dicyclohexyl (III), dessen Konstanten nach 3 Monaten unverändert waren.

Die Wasserabspaltung aus dem *trans*-o-Cyclohexyl-cyclohexanol, Schmelzp. 52°, geht schwieriger vor sich und gibt nur 85 Proc. Ausbeute. Nachfolgende Hydrierung führt zu einem gesättigten Kohlenwasserstoff (IV).

Die physikalischen Eigenschaften III und IV sind, im Vergleich zu denen der Dicyclohexyle I (aus Diphenyl nach Fittig) und II (aus pyrogenem Diphenyl) gestellt, folgende (alle Kohlenwasserstoffe gaben mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung) (vgl. Tabelle S. 113).

Die Konstanten von I und II stimmen untereinander sehr gut überein; sie sind auch fast identisch mit den von

Digitized by Google

	I	II	III	IV
Siedep. 736 mm . . .	233	234	232,5	230—233
Schmelzpunkt	+ 2,25	+ 2,0	± 0	− 11,4°
d_4^{20}	0,8868	0,8871	0,8863	0,8836
n_{He}^{20}	1,4803	1,4802	1,4795	1,4777
M_D	53,28	53,24	53,21	53,24

Zelinsky angegebenen Daten (wenn man vom Siedepunkt absieht, für den Zelinsky keinen Druck angibt). Dagegen zeigt III eine geringe, aber doch deutliche Abweichung, vor allem im Schmelzpunkt, und bei IV geht aus der Schmelz- und Erstarrungskurve (vgl. den exp. Teil) zweifellos hervor, daß die Substanz uneinheitlich ist. Da man die kryoskopische Konstante des Dicyclohexyls kennt[1]), und die Beimengung nur ein isomerer Kohlenwasserstoff sein kann, kann man aus der Schmelzpunktserniedrigung auf den Procentgehalt an Isomeren schließen und findet dann für III 2,5 Proc., für IV 15 Proc. IV fällt übrigens schon rein äußerlich durch seine Viscosität auf, die viel geringer ist, als die von I—III.

Nach Schrauth sollten die Beimengungen isomere Dicyclohexyle sein. Zur Trennung durch fraktionierte Destillation reichten die vorhandenen Mengen nicht aus. Doch ließ sich schon durch katalytische Dehydrierung des Gemisches zeigen, daß mit dem Dicyclohexyl strukturisomere Kohlenwasserstoffe vorliegen müssen.

Während Dicyclohexyl, wie auch Zelinsky[2]) angibt, ganz glatt zu Diphenyl dehydriert wird, läßt sich das Kohlenwasserstoffgemisch IV nicht vollständig dehydrieren. Nach oftmaligem Überleiten über den Katalysator, wobei jedesmal vom ausgeschiedenen Diphenyl abgesogen wurde, bleibt ein Öl übrig, das keinen Wasserstoff mehr abgibt, nicht zum Krystallisieren zu bringen ist, und beim Nitrieren eine nicht krystallisierende Nitroverbindung gibt; es ist also jedenfalls kein Phenylcyclohexan, das bei der Dehydrierung des Diphenyls als Zwischenprodukt auftritt, und dessen p-Nitroderivat bei 56° schmilzt. Zur näheren Untersuchung reichten die vorhandenen Mengen nicht aus.

[1]) Mascarelli, C. 1911, I, 75. [2]) a. a. O.

Digitized by Google

4. *Die Aufklärung der Konstitution* gab die Untersuchung der *ungesättigten* Kohlenwasserstoffe. Der mit Zinkchlorid aus cis-o-Cyclohexyl-cyclohexanol hergestellte Kohlenwasserstoff hat einen fast scharfen Schmelzpunkt von -41^0; mit ihm identisch ist ein mittels Kaliumbisulfat gewonnener Kohlenwasserstoff. Dagegen weicht der aus trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol mittels Zinkchlorid erhaltene Kohlenwasserstoff in seinen physikalischen Konstanten sehr erheblich ab, ist in Kohlensäureschnee zwar zum Krystallisieren zu bringen, hat aber einen ganz unscharfen Schmelzpunkt.

Kohlenwasserstoff aus	Siedep.$_{748}$	d_4^{20} [1])	n_D^{20} [1])	M_D
cis-o-Cyclohexyl-hexanol mit $ZnCl_2$ . .	234°	0,9065	1,4946	52,73
„ „ $KHSO_4$.	234°	0,9072	1,4944	52,67
trans-o- „ „ $ZnCl_2$ . .	231—234°	0,9033	1,4924	52,79

Der aus *cis-o-Cyclohexyl-cyclohexanol* gebildete Kohlenwasserstoff ist praktisch reines Δ_1-Cyclohexyl-cyclohexen. Er gibt zwar zwei *Nitrosochloride*, Schmelzp. 115° und 140°, letzteres in Übereinstimmung mit Wallach, doch beweist das nichts gegen die (praktische) Einheitlichkeit, da diastereomere Nitrosochloride denkbar sind. Die direkte Oxydation mit Permanganat gibt nur *Adipinsäure*. Ozonisiert man aber zuerst und oxydiert das gespaltene Ozonid mit Permanganat, so entsteht eine in rohem Zustande bei 32° schmelzende Ketosäure, die durch ihr Semicarbazon vom Schmelzp. 173° mit der *ε-Cyclohexyl-δ-ketocapronsäure* identifiziert wurde, die auch durch Oxydation des Cyclohexyl-cyclohexanons entsteht. Die aus dem Semicarbazon regenerierte Ketosäure ist rein, Schmelzp. 58°. Eine Dicarbonsäure war nicht aufzufinden, Cyclohexanon war auch nicht entstanden. Die Doppelbindung liegt also fest in der Δ_1-Stellung und fluktuiert nicht.

[1]) Die hier angegebenen Werte sind durch Umrechnung aus Mittelwerten erhalten, die aus nahe aneinanderliegenden Einzelwerten mehrerer Bestimmungen gebildet worden sind; im Versuchsteil ist jedesmal nur ein Einzelwert angegeben.

Digitized by Google

Der aus *trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol* gebildete Kohlenwasserstoff gibt nur geringe Mengen eines festen Nitrosochlorids, Schmelzp. 104°, das wohl mit dem bei 115° schmelzenden obenerwähnten identisch ist. Die Oxydation mit Permanganat gibt neben Adipinsäure noch Spuren einer öligen Säure. Die Permanganatoxydation des Ozonisierungsproduktes gibt eine *nicht* krystallisierende Säure, die nur zum Teil in ein krystallisiertes Semicarbazon vom Schmelzpunkt 173° übergeht, das mit dem Semicarbazon der ε-Cyclohexyl-δ-ketocapronsäure keine Depression gibt. Doch ist die daraus regenerierte Ketosäure nicht rein, sie schmilzt bei etwa 48° statt 58°, also muß eine zweite Ketosäure zugegen sein. Es gelang nicht, weder beim krystallisierten, noch beim nicht krystallisierten Semicarbazon, die außerordentlich ähnlichen Säuren zu trennen. Dicarbonsäuren, sowie Cyclohexanon wurden auch hier nicht gefunden. Also besteht der aus dem trans-Alkohol erhaltene, uneinheitliche Kohlenwasserstoff zum Teil aus Δ_1-Cyclohexyl-cyclohexen, nicht vorhanden sind Δ_2- oder Δ_3-Cyclohexyl-cyclohexen, die charakterisierbare Dicarbonsären hätten geben müssen, auch nicht Cyclohexyliden-cyclohexan, mithin wieder nicht fluktuierende Doppelbindungen, sondern vorhanden ist außerdem ein zweiter Kohlenwasserstoff mit der gleichen charakteristischen Lage der Doppelbindung wie im Δ_1-Cyclohexyl-cyclohexen.

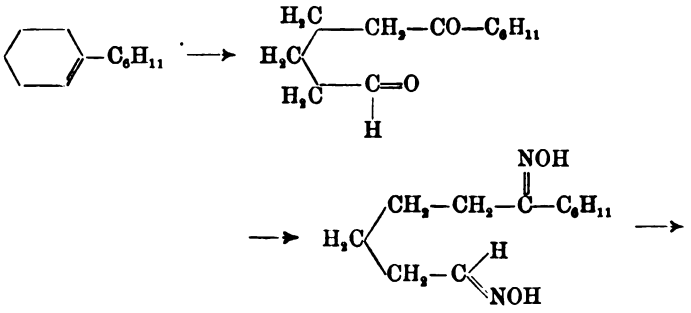
Die Aufspaltung der Ozonisierungsprodukte in kleinere Bruchstücke, die eine Trennung gestatten, gelang durch Beckmannsche Umlagerung der Oxime und nachfolgende Hydrolyse der Säureamide. Aus dem Δ_1-Cyclohexylcyclohexen können dabei je nach der Richtung, in der die Umlagerung geht, entstehen:

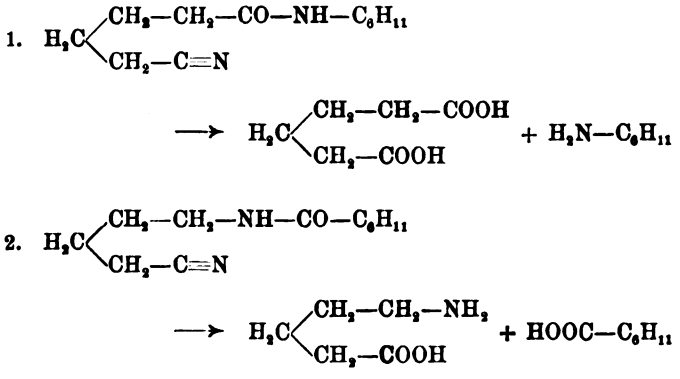
1. *Adipinsäure + Cyclohexylamin,*
2. *Hexahydrobenzoesäure + δ-Aminovaleriansäure*

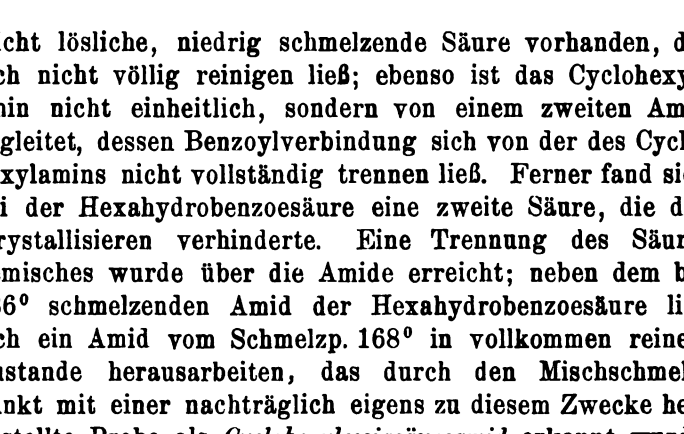
nach folgendem Schema (S. 116).

Von diesen Spaltprodukten wurden *Adipinsäure, Cyclohexylamin* und *Hexahydrobenzoesäure* aufgefunden und identifiziert; Aminosäure wurde festgestellt, aber nicht näher untersucht. In den Mutterlaugen der Adipinsäure ist eine

Digitized by Google

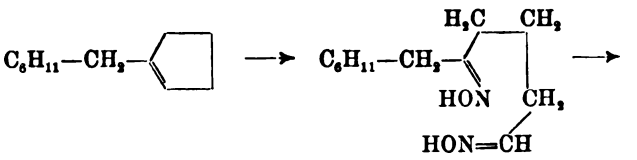






leicht lösliche, niedrig schmelzende Säure vorhanden, die sich nicht völlig reinigen ließ; ebenso ist das Cyclohexylamin nicht einheitlich, sondern von einem zweiten Amin begleitet, dessen Benzoylverbindung sich von der des Cyclohexylamins nicht vollständig trennen ließ. Ferner fand sich bei der Hexahydrobenzoesäure eine zweite Säure, die das Krystallisieren verhinderte. Eine Trennung des Säuregemisches wurde über die Amide erreicht; neben dem bei 186° schmelzenden Amid der Hexahydrobenzoesäure ließ sich ein Amid vom Schmelzp. 168° in vollkommen reinem Zustande herausarbeiten, das durch den Mischschmelzpunkt mit einer nachträglich eigens zu diesem Zwecke hergestellte Probe als *Cyclohexylessigsäureamid* erkannt wurde. Damit ist der zweite Kohlenwasserstoff als *Hexahydrobenzyl-Δ_1-cyclopenten* erkannt:

Digitized by Google



1. $C_6H_{11}-CH_2-NH-CO-(CH_2)_3.C\equiv N$
(zum geringen Teil)
$\longrightarrow C_6H_{11}-CH_2-NH_2 + HOOC-(CH_2)_3-COOH$

2. $C_6H_{11}-CH_2.CO-NH-(CH_2)_3.C\equiv N$
(zum größten Teil)
$\longrightarrow C_6H_{11}-CH_2-COOH + H_2N.(CH_2)_3.COOH$.

Die Säure, die die Adipinsäure begleitet, muß Glutarsäure sein, und der Begleiter des Cyclohexylamins das *Hexahydro-benzylamin.*

Für die Gegenwart eines dritten Kohlenwasserstoffs gibt der Abbau nicht den geringsten Anhaltspunkt; ein solcher kann, wenn überhaupt, nur in sehr geringer Menge vorhanden sein.

Das Ergebnis der Untersuchung ist also folgendes: *cis-* und *trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol* kommen nur in je einer Form vom Schmelzp. 63° bzw. 52° vor. Die Isomeren verhalten sich bei der Wasserabspaltung verschieden. Beim cis-o-Cyclohexyl-cyclohexanol geht die Abspaltung leicht und nur zu 2,5 Proc. unter Umlagerung vor sich. Das trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol spaltet viel schwerer Wasser ab und gibt nur zu etwa 75 Proc. das normale Reaktionsprodukt, Δ_1-Cyclohexyl-cyclohexen; mindestens 15 Proc. sind zu Cyclohexylmethyl-Δ_1-cyclopenten isomerisiert. Das ist dieselbe Art der Umlagerung, die Vavon und Mitchovitch[1]) bei der Reaktion von Cyclohexyl-magnesiumchlorid mit Cyclohexenoxyd und o-Chlorcyclohexanol festgestellt haben.

Mit diesen Feststellungen ist gleichzeitig die Unhaltbarkeit der Angaben von Schrauth dargetan. **Es gibt keine isomeren Dicyclo-hexyle.**

[1]) C. r. 186, 702 (1928); vgl. auch Tiffeneau, C. r. 159, 771 (1914); Godchot u. Canquil, C. r. 186, 375 (1928).

Digitized by Google

Im einzelnen sind noch einige Kleinigkeiten in der Arbeit von Schrauth und Görig richtig zu stellen. Bei der Wasserabspaltung und nachfolgender Hydrierung entstehen nur zwei, nicht drei Kohlenwasserstoffe, wie Schrauth und Görig angeben. Die erheblichen Siedepunktsdifferenzen sind wahrscheinlich auf den Gehalt an Feuchtigkeit zurückzuführen, oder Schrauth und Görig haben von vornherein in ihrem undefinierten o-Cyclohexyl-cyclohexanol noch Alkohole mit anderer Konstitution gehabt. Verschiebungen der Doppelbindung in den ungesättigten Kohlenwasserstoffen, Isomerisationen der gesättigten Kohlenwasserstoffe, die Schrauth und Görig gefunden haben wollen, treten *nicht* ein. Die Behauptung, das „einheitliche" o-Cyclohexyl-cyclohexanol vom Schmelzp. 42° (Nebenprodukt bei der katalytischen Hydrierung des Phenols) gebe im Gegensatz zum öligen Gemisch einen *einheitlichen* Kohlenwasserstoff, kann nicht stimmen. Denn ein o-Cyclohexyl-cyclohexanol vom Schmelzp. 42° ist ein Gemisch von 75 Proc. trans- und 25 Proc. cis- (oder von etwa 50 Proc. trans- und 50 Proc. cis-, was aber der Entstehungsweise nach unwahrscheinlich ist, weil bei den Hydrierungen mit Nickel überwiegend trans-Verbindungen entstehen), und ein solches hätte sogar noch etwas mehr isomerisierten Kohlenwasserstoff geben müssen als das ölig bleibende Gemisch, das aus etwa 40 Proc. cis- und 60 Proc. trans- besteht.

Beschreibung der Versuche.

1. Hydrierung des Diphenyls.

30 g des durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol und verdünnter Essigsäure gereinigten Kohlenwasserstoffs wurden in 150 ccm Eisessig gelöst und mit 2 g Platinoxyd (nach Adams und Shriner) hydriert. Die Hydrierungsgeschwindigkeit betrug anfänglich 2 Liter pro Stunde und sank erst, als das in Eisessig schwer lösliche Dicyclohexyl sich ausschied und den Katalysator umhüllte. Gesamtdauer der Hydrierung 30 Stunden.

Der isolierte Kohlenwasserstoff enthielt noch Phenylcyclohexan, das durch Schütteln mit Schwefelsäure bei Wasserbadtemperatur, dann mit Nitriergemisch bei 0° entfernt und als p-Nitro-phenylcyclohexan vom Schmelzp. 56° identifiziert wurde. Nach zweimaliger Vakuumdestillation über Natrium waren die Konstanten des Dicyclohexyls aus Diphenyl nach Fittig (I) und aus Diphenyl, nach dem pyrogenen Verfahren gewonnen (II) folgende:

I. Siedep.$_{736}$ 233°, Schmelzp. + 2,25°, $d_4^{20,6} = 0{,}8862$, $n_{He}^{21,1} = 1{,}47977$,
$M_D = 53{,}22$.

II. Siedep.$_{736}$ 234°, Schmelzp. + 2,0°, $d_4^{19,6} = 0{,}8876$, $n_{He}^{21,1} = 1{,}47967$,
$M_D = 53{,}19$.

Digitized by Google

Von I wurde noch die Viscosität bei 20,0° bestimmt; sie ist sehr hoch, 3,97, wenn Wasser bei 20° = 1 gesetzt wird.

Es ist sehr wichtig, daß die Präparate unmittelbar vor jeder Bestimmung über Natrium destilliert werden; Feuchtigkeit ist bei der hohen Viscosität des Kohlenwasserstoffs sowohl auf Dichte und Brechungsindex, wie auf den Siedepunkt von Einfluß. Aus feuchtem Dicyclohexyl können durch Destillation leicht zwei ziemlich scharf bei 227—229° und 233—234° siedende Fraktionen erhalten werden.

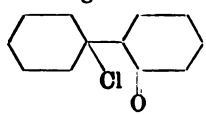
Die Schmelzpunkte[1]) wurden in einer besonderen, von Herrn Dr. W. Frost zusammengestellten Apparatur an einer Menge von 10 g durch Aufnahme der Schmelz- und Erstarrungskurve mit Hilfe eines Thermoelements bestimmt. Auf die gleiche Weise wurden die Schmelzpunkte aller weiter unten genannten Kohlenwasserstoffe ermittelt.

2. Cis- und trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol.

o-Cyclohexenyl-cyclohexanon.

Die von Wallach für die Darstellung des o-Cyclohexenyl-cyclohexanons angegebene Darstellungsmethode wurde in einigen Punkten vorteilhaft abgeändert, weshalb sie hier nochmals wiedergegeben sei. Wie schon Wallach betont, ist eine vorhergehende Reinigung des technischen Cyclohexanons erforderlich; das diesem beigemengte Cyclohexanol wird am besten durch mehrtägiges Stehen über gepulvertem Chlorcalcium entfernt.

Die Kondensation des Cyclohexanons wird durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff unter Eiskühluug bewirkt. Nach einiger Zeit scheidet sich die Verbindung



krystallin ab, löst sich aber bei weiterem Einleiten von Chlorwasserstoff wieder auf. Wenn kein Gas mehr absorbiert wird, läßt man das Reaktionsprodukt einige Stunden im Eisschrank stehen und saugt den überschüssigen Chlorwasserstoff im Vakuum ab. Man kann dann im gleichen Kolben die Zersetzung durch Erwärmen im Vakuum vornehmen, wobei weiterer Chlorwasserstoff entweicht; beim vorsichtigen Destillieren geht darauf zuerst Wasser, zwischen 120—160° bei 13 mm die Hauptmenge des Ketons über. Dies wird nochmals fraktioniert, Siedep.$_{13}$ 142°, Ausbeute an reinem Keton aus 950 g reinem Cyclohexanon 540 g, d. i. 63 Proc. d. Th. Oxim, Schmelzp. 153°, Semicarbazon Schmelzp. 182—184°, in Übereinstimmung mit den Angaben

[1]) Erstarrungs- und Schmelzkurven finden sich in der Dissertation von O. Neunhoeffer.

Digitized by Google

der Literatur. Einige Male wurde für das Keton jedoch ein Siedepunkt$_{18}$ 186—192° gefunden; das Keton gibt mit Eisenchlorid eine starke Enolreaktion: violettrote Farbe.

o-Cyclohexyl-cyclohexanon.

100 g o-Cyclohexenyl-cyclohexanon werden in 200 ccm reinem Methanol, das etwa 1 Proc. Chlorwasserstoff enthält, gelöst und mit 10 g Palladium-Tierkohle-Katalysator (Pd-Gehalt 2 g) hydriert. In $1^1/_2$ Stunden werden insgesamt 14,5 Liter Wasserstoff (ber. 13,5 Liter) aufgenommen. Bei Abwesenheit von freiem HCl verläuft die Hydrierung viel langsamer und braucht etwa 8 Stunden bis zur Beendigung. Siedep.$_{748}$ 264—269°.

Bei der Destillation im Vakuum zeigten sich wie beim o-Cyclohexenyl-cyclohexanon Unregelmäßigkeiten im Siedepunkt, indem das Keton unter 13 mm bald bei 137° (in Übereinstimmung mit der Literatur) und bald bei 133°, gelegentlich sogar bei 210° siedete. Vermutlich sind diese Verschiedenheiten im Siedepunkt auf die Bildung der Enolform zurückzuführen, denn man bekommt nach einiger Zeit mit Eisenchlorid eine starke Rotfärbung. Bei einem Präparat, das über das Semicarbazon gereinigt worden war, und 1 Jahr in einer dunklen Flasche gestanden hatte, ergab allerdings die mehrfach wiederholte Bromtitration stets nur einen Gehalt von 0,1 Proc. Enol. Die Konstanten des über Permanganat mit Wasserdampf abgeblasenen und über das mehrfach umkrystallisierte Semicarbazon vom Schmelzp. 174—176° gereinigte Keton stimmen mit den von Wallach angegebenen nicht ganz überein:

$$d_4^{19,6}\ 0{,}9736,\quad n_{He}^{19,6} = 1{,}48897,\quad M_D = 53{,}40;$$

$$\text{Wallach}\ d_4^{18} = 0{,}978,\quad n_D^{18}\ 1{,}4887,\quad M_D = 53{,}14\ \text{(ber. 53,22)}.$$

Der Schmelzpunkt des Semicarbazons war selbst bei raschem Erhitzen (Eintauchen in ein auf 170° vorgewärmtes Bad) nicht über 180° zu bringen, während sich sonst in der Literatur in für ein Semicarbazon auffallender Übereinstimmung 203° angegeben findet.[1]) (Der von Bedos[2]) zu 175—182° angegebene Schmelzpunkt kommt dem Semicarbazon des Cyclohexyl-cyclopentyl-ketons, $C_6H_{11}COC_5H_9$, zu.[3]) Eine etwas eingehendere Untersuchung zeigte, daß das Keton zwei verschiedene Semicarbazone zu bilden vermag, die trotz anscheinend

[1]) Wallach, A. 381, 95 (1911) („unscharf"); J. v. Braun, B. 55, 3792 (1922); Schrauth, B. 56, 1900 (1923); Ranedo u. Léon, C. 1924 II, 835.

[2]) C. r. 177, 958 (1923). [3]) Vavon, C. r. 186, 702 (1928).

Digitized by Google

gleicher Versuchsbedingungen in wechselndem Mengenverhältnis entstehen und durch Umkrystallisieren weitgehend getrennt werden können; das schwerer lösliche Semicarbazon schmilzt, wie oben angegeben, bei 174—176° und hat diesen Schmelzpunkt noch nach einem Jahre, während das leichter lösliche um 203°, gelegentlich sogar noch höher schmilzt. Beide Semicarbazone wurden auch aus einem Cyclohexyl-cyclohexanon erhalten, das durch Oxydation von reinem cis-o-Cyclohexylcyclohexanol Schmelzp. 63°, mit Chromsäure in der Kälte gewonnen und vor der Umsetzung mit Semicarbazid-hydrochlorid nicht destilliert worden war. Es liegt also Isomerie sicher nicht beim Keton, wohl aber Semicarbazon vor; das ist nichts Ungewöhnliches und auch sonst beobachtet.[1])

Auch das aus dem Keton gebildete *Oxim* ist nicht einheitlich; nur ein Teil krystallisiert und hat den Schmelzp. 102° (Wallach und andere Autoren 100°), ein erheblicher Teil bleibt ölig und ist auch nach der Destillation im Vakuum bei 2 mm nicht vollständig zum Krystallisieren zu bringen. Eine reinliche Trennung der isomeren Oxime über ihre Benzoylderivate ist nicht möglich, weil die Benzoylverbindung des Oxims, Schmelzp. 102°, nicht krystallisiert.

Die Oxydation des Cyclohexyl-cyclohexanons mit Chromsäure nach der von Wallach[2]) gegebenen Vorschrift führte zu der von Wallach beschriebenen ε-Cyclohexyl-δ-keto-capronsäure vom Schmelzp. 58°.

trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol.

50 g Cyclohexyl-cyclohexanon werden in 500 ccm absolutem Alkohol gelöst und mit 50 g Natrium, das in rascher Folge eingetragen wird, reduziert. Ausbeute 36 g Alkohol vom Siedep.$_{18}$ 143°, der nur sehr langsam und unvollständig krystallin wird. Dieses rohe o-Cyclohexyl-cylohexanol wird mit etwas mehr als der berechneten Menge Phtalsäureanhydrid im Ölbad 4 Stunden auf 130° erhitzt und das Reaktionsprodukt aus Petroläther vom Siedep. 70° umkrystallisiert. Der so erhaltene rohe Phtalester wird zur Entfernung der Phtalsäure mit heißem Wasser behandelt und

[1]) Wallach, B. 28, 1956 (1895); Zusammenstellung in Terpene und Campher, S. 141. Auch das trans-β-Dekalon gibt außer den früher beschriebenen Semicarbazon vom Schmelzp. 193° ein um 160° schmelzendes, das viel leichter löslich ist.

[2]) A. 381, 95 (1911).

Digitized by Google

dann nochmals aus Petroläther umkrystallisiert. Schmelzpunkt 126°. (Vavon, Anziani und Herynk 123—124°).

0,390 mg Subst.: 10,400 mg CO_2, 2,700 mg H_2O.

$C_{20}H_{36}O_4$ Ber. C 72,68 H 7,94 Gef. C 72,73 H 7,75.

Der daraus durch Verseifung gewonnene Alkohol schmilzt bei 52°. Siedep.$_{748}$ 265—268°.

4,870 mg Subst.: 14,130 mg CO_2, 5,32 mg H_2O.

$C_{12}H_{22}O$ Ber. C 79,04 H 12,14 Gef. C 79,15 H 12,22.

Phenylurethan, Schmelzp. 136°; Toluolsulfosäureester, stabil, Schmelzp. 122°, neutraler Oxalsäureester, Schmelzp. 80°.

trans-o-Cyclohexenyl-cyclohexanol.

Zu 250 g Cyclohexenyl-cylohexanon, die in 2,5 Liter absolutem Alkohol gelöst sind, werden möglichst rasch 250 g Natrium in kleinen Stücken gegeben. Das in der üblichen Weise aufgearbeitete Reaktionsprodukt siedet unter 15 mm bei 139°. Ausbeute 93 Proc. d. Th. Der rohe Alkohol wird mit der gleichen Gewichtsmenge Phtalsäureanhydrid im Ölbad 4 Stunden auf 140° erhitzt. Die noch heiße Schmelze wird in 1 Liter gekühlten Petroläther (Siedepunkt bis 60°) langsam eingegossen; dann wird die petrolätherische Lösung noch eine Stunde gekocht und abkühlen gelassen. Der sich ausscheidende Phtalester wird zur Entfernung noch anhaftender öliger Anteile nochmals mit Petroläther ausgekocht, dann mit Wasser erwärmt, und schließlich nach dem Trocknen durch Lösen in siedendem Benzol von der Phtalsäure getrennt (auf 100 g Rohester sind etwa 800 ccm Benzol erforderlich). Aus der Benzollösung scheidet sich der Ester nach längerem Stehen bei 0° krystallin ab und wird dann noch aus 75-proc. Methylalkohol umkrystallisiert. Ausbeute 90 g reiner Ester aus 90 g rohem Alkohol. Schmelzp. 168°.

3,922 mg Subst.: 10,550 mg CO_2, 2,60 mg H_2O.

$C_{20}H_{24}O_4$ Ber. C 73,13 H 7,37
Gef. „ 73,36 „ 7,25.

Die Verseifung des Phtalesters gibt reines trans-Cyclohexenyl-cyclohexanol vom Schmelzp. 42° (Wallach gibt 34

Digitized by Google

bis 35° an); *Phenylurethan*, Schmelzp. 117° (Wallach 118 bis 119°). Die katalytische Hydrierung in methylalkoholischer Lösung mit Palladium-Tierkohlekatalysator wie mit Platinoxyd nach Adams gibt sofort reines trans-Cyclohexyl-cyclohexanol vom Schmelzp. 52°.

In den petrolätherischen Mutterlaugen des Phtalesters ist ein nicht krystallisierendes Gemisch von Phtalestersäuren enthalten. Nach der Verseifung wurde das daraus erhaltene Alkoholgemisch mit Bernsteinsäureanhydrid umgesetzt; die entstandenen sauren Bernsteinsäureester wurden durch Umkrystallisieren aus Petroläther und Essigester getrennt: Schmelzp. 100° und 127°. Der Ester vom Schmelzp. 100° gibt bei der Verseifung trans-Cyclohexenyl-cyclohexanol, der vom Schmelzp. 127° einen andern Alkohol, Schmelzp. 48°, der aber wohl noch nicht rein ist; vielleicht stellt er die cis-Form dar.

cis-o-Cyclohexyl-cyclohexanol.

1. Durch Hydrierung von Cyclohexyl-cyclohexanon nach Skita.

Ansatz: 50 g Keton, 120 ccm Eisessig, 45 ccm konz. Salzsäure, 0,5 g Platin als Kolloid in 65 ccm Wasser, 1 g Platin als Platinchlorwasserstoffsäure (15°, 3 Atm. Überdruck). In 70 Minuten werden 6,5 Liter Wasserstoff aufgenommen (ber. 6,2 Liter); da die Hydrierung noch weiter bis zum Kohlenwasserstoff geht, wird sie nach der Aufnahme von 6,5 Liter abgebrochen.

Der entstandene Alkohol krystallisiert nach der Destillation zum großen Teil und wird aus Petroläther umkrystallisiert. Siedep.$_{748}$ 264—267°, Schmelzp. 63°.

4,406 mg Subst.: 12,720 mg CO_2, 4,80 mg H_2O.

$C_{12}H_{22}O$	Ber.	C 79,04	H 12,14
	Gef.	„ 78,76	„ 12,19.

Phenylurethan, Schmelzp. 153°. Toluolsulfosäureester, instabil.

2. Durch Hydrierung von o-Oxy-diphenyl nach Adams.

Das von der Gesellschaft für Teerverwertung bezogene o-Oxydiphenyl war sehr unrein und mußte einer gründlichen Reinigung unterworfen werden, nach der es den Schmelzpunkt 58° hatte.

35 g dieses reinen o-Oxy-diphenyls wurden in 150 ccm Eisessig

Digitized by Google

gelöst und mit 5 g Platinoxyd als Katalysator hydriert. Geschwindigkeit der Wasserstoffaufnahme etwa 1 Liter in der Stunde; öfteres Aktivieren ist notwendig. Gesamtaufnahme 29 Liter (ber. 27,6 Liter); auch hier ging die Wasserstoffaufnahme, wenn auch nur langsam weiter. Das isolierte Reaktionsprodukt krystallisierte teilweise, Schmelzp. 61°, mit dem nach Skita erhaltenen cis-o-Cyclohexyl-cyclohexanol keine Schmelzpunktserniedrigung.

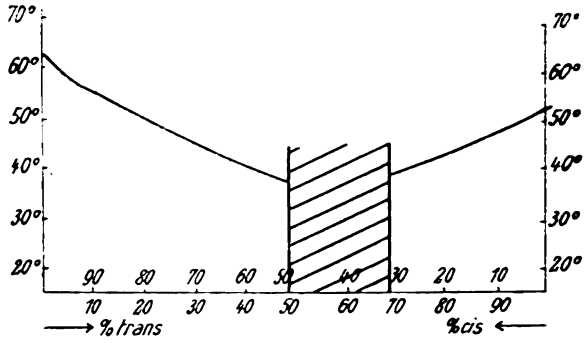


Fig. 1

Schmelzkurve eines Gemisches von cis- und trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol

3. Wasserabspaltung aus cis- und trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol.

1. *Aus der cis-Form, Schmelzp. 63°.*

a) mit Chlorzink. 30 g Alkohol wurden mit 12 g frisch geschmolzenem Chlorzink 2 Stunden auf 180—190° erhitzt. Der in quantitativer Ausbeute erhaltene Kohlenwasserstoff hatte nach der Destillation über Natrium folgende Eigenschaften: Schmelzp. — 41°, Siedepunkt$_{746}$ 234°, Siedep.$_{13}$ 110°, $d_4^{19,4}$ 0,9071, $n_{He}^{17,6}$ 1,49556 M_D = 52,73.

b) mit Kaliumbisulfat. 10 g Alkohol, 20 g frisch geschmolzenes Bisulfat, 2 Stunden, 180°. Ausbeute 7 g Kohlenwasserstoff. Siedep. 234°, $d_4^{21,2}$ 0,9060, $n_{He}^{17,7}$ 1,495337, M_D = 52,67.

Für alle weiterhin beschriebenen Umsetzungen wurde stets der mittels Chlorzink hergestellte Kohlenwasserstoff benutzt.

Hydrierung. 15 g Kohlenwasserstoff wurden mit Palladium-Tierkohle-Katalysator ohne Lösungsmittel hydriert.

Nach der Reinigung mit Nitriergemisch bei 0° und mehrmaliger Destillation über Natrium hatte der gesättigte Kohlenwasserstoff fol-

Digitized by Google

gende Eigenschaften: Schmelzp. 0°, Siedep.$_{736}$ 232,5°, $d_4^{21,8}$ 0,8947, $n_{He}^{19,3}$ 1,47986 M_D = 53,27.

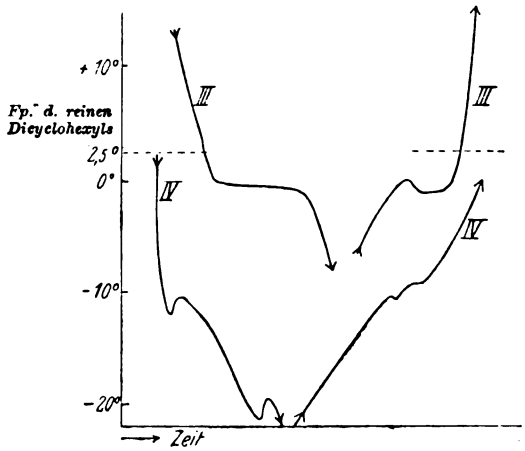


Fig. 2.

Erstarrungs- und Schmelzkurve.

2. *Aus der trans-Form, Schmelzp. 52°.*

50 g trans-Alkohol wurden mit 20 g frisch geschmolzenem Chlorzink 2 Stunden auf 180—190° erhitzt. Ausbeute an ungesättigtem Kohlenwasserstoff nur 85 Proc. d. Th. Eigenschaften: Wird in Kohlensäureschnee fest, Schmelzpunkt unscharf um −50°. Siedep.$_{736}$ 231 bis 234°, Siedep.$_{13}$ 106° $d_4^{20,3}$ 0,9032, $n_{He}^{22,0}$ 1,49146, M_D=52,79. (Bei Wiederholung des Versuchs wurde ein Kohlenwasserstoff vom gleichen Siedepunkt, $d_4^{20,8}$ 0,9018 erhalten. Wallach gibt an d_4^{20} = 0,9010, n_D = 1,4910, M_D = 52,72 für einen aus rohem Alkohol vom Schmelzp. 42° erhaltenen Kohlenwasserstoff).

Hydrierung. 25 g des Kohlenwasserstoffs ($d_4^{20,3}$ = 0,9032) wurden in einem Gemisch von 25 ccm Eisessig und 25 ccm Äther gelöst und mit 2,5 g Platinmohr in 25 Minuten hydriert (Aufnahme 3,8 Liter, ber. 3,4). Nach der üblichen Reinigung zeigte der gesättigte Kohlenwasserstoff folgende Konstanten:

Siedep.$_{736}$ 230—233°, $d_4^{20,2}$ 0,8834, $d_4^{21,1}$ 0,8827, $n_{He}^{22,1}$ 1,47673, M_D 53,24.

Katalytische Dehydrierung des Dicyclohexyls.

Die Dehydrierung wurde in der von Zelinsky[1]) beschriebenen Apparatur durchgeführt. Als Katalysator diente

[1]) B. **56**, 1250 (1923).

Digitized by Google

Platinasbest mit einem Gehalt von etwa 16 Proc. Platin, der durch Reduktion von in Asbest aufgesogener Platinchlorwasserstoffsäure mit Formaldehyd in alkalischer Lösung gewonnen worden war. Die günstigste Dehydrierungstemperatur war 320—330°.

Ein Probeversuch mit 8 g reinem Dicyclohexyl gab bei einmaligem Überleiten über den Katalysator 3,2 Liter Wasserstoff, 4 g Diphenyl und 4 g flüssige Anteile, die aus Phenylcyclohexan bestanden (Nachweis durch das p-Nitroderivat). Die Dehydrierung geht also über eine faßbare Zwischenstufe, anders als die Dehydrierung des Dekalins, bei der Zelinsky keinem Zwischenprodukt begegnete.

Dann wurden 20 g des aus trans-o-Cyclocyclohexylcyclohexanol gewonnenen Kohlenwasserstoffs (Dicyclohexyl IV) durch mehrmaliges Überleiten über den Katalysator dehydriert, bis kein Wasserstoff mehr entbunden wurde. Da das jedesmal gebildete Diphenyl abfiltriert werden mußte, war die Ausbeute nicht quantitativ. Im ganzen wurden so 2 g eines Kohlenwasserstoffs erhalten, der auch bei Anwendung eines ganz frischen Katalysators sich nicht mehr veränderte, in einer Kältemischung nicht krystallisierte und bei 227° siedete. Bei der Nitrierung entstand kein p-Nitrophenylcyclohexan, sondern ein gelbes Öl, das zur weiteren Untersuchung nicht mehr ausreichte.

4. Aufkärung der Konstitution der ungesättigten Kohlenwasserstoffe.

1. *Kohlenwasserstoff aus cis-Cyclohexyl-cyclohexanol.*

Nitrosochloride. Der Kohlenwasserstoff bildet zwei Nitrosochloride vom Schmelzp. 115°, schwer löslich in Aceton, und vom Schmelzp. 140°, leichter löslich in Aceton, wird durch Umkrystallisieren aus Alkohol rein erhalten. Wallach beschreibt nur ein Nitrosochlorid vom Schmelzpunkt 140° und gibt eine Ausbeute von 35—40 Proc. an[1]).

Oxydation mit Permanganat. 7 g Kohlenwasserstoff wurden mit einer schwach alkalischen Lösung von 18 g Kaliumpermanganat in 500 ccm Wasser unter Zusatz von Eis bis zur Entfärbung des Permanganats — 8 Stunden lang — geschüttelt. Die Aufarbeitung des Reaktionsproduktes ergab geringe Mengen nicht krystallisierender neutraler Anteile; das Hauptprodukt war *Adipinsäure*, an sauren Be-

[1]) Ost, Dissertation Göttingen.

Digitized by Google

standteilen waren sonst nur Spuren einer nicht krystallisierenden Säure entstanden.

Ozonisierung. 10 g Kohlenwasserstoff wurden mit 25 ccm Eisessig versetzt und so lange mit gewaschenem Ozon ozonisiert, bis der Kohlenwasserstoff verschwunden war. Die neutralisierte Lösung wurde mit Äther erschöpfend extrahiert. Nach dem Abdampfen des Äthers blieb ein Öl zurück, das mit fuchsinschwefliger Säure Aldehydreaktion gab und von dem eine Probe im Vakuum unter teilweiser Zersetzung destillierte. Es wurde mit warmer, alkalischer Permanganatlösung oxydiert; dabei entstand eine Säure, die bei 32° unscharf schmolz und durch Krystallisieren nicht völlig zu reinigen war. Sie bildete ein Semicarbazon, das leicht rein zu erhalten war und bei 173° schmolz. Mischschmelzpunkt mit dem Semicarbazon der *ε*-Cyclohexyl-*δ*-ketocapronsäure, die durch Chromsäureoxydation des o-Cyclohexylcyclohexanons erhalten worden war, gab keine Depression. Genau so wurde die in den sauren Anteilen der Ozonisierung sich findende Ketosäure identifiziert. Aus dem Semicarbazon wurde durch Zerlegung mit Schwefelsäure die reine Ketosäure vom Schmelzp. 58° gewonnen.

2. *Kohlenwasserstoff aus trans-o-Cyclohexyl-cyclohexanol.*

Nitrosochlorid. Die Reinigung des Nitrosochlorids war schwieriger als bei dem Nitrosochlorid des aus der cis-Form erhaltenen Kohlenwasserstoffs. Es konnten nur geringe Mengen eines nicht scharf bei 104° schmelzenden Nitrosochlorids isoliert werden.

Oxydation mit Permanganat. Sie hatte dieselben Ergebnisse wie beim Kohlenwasserstoff aus der cis-Form.

Ozonisierung mit nachfolgender Oxydation. Je 15 g Kohlenwasserstoff wurden mit 30 ccm Eisessig und 10 ccm Wasser versetzt und ozonisiert. Das aus der neutralisierten Lösung ausgeätherte Reaktionsprodukt enthielt keine bei 100° unter 15 mm Druck flüchtigen Bestandteile, Cyclohexanon oder Cyclopentanon sind also nicht entstanden. Damit war die Gegenwart von Cyclohexyliden-cyclohexan im Kohlenwasserstoffgemisch ausgeschlossen. Die Permanganatoxydation wurde, wie oben beschrieben, durchgeführt. Die gebildete Säure krystallisierte hier nicht und wurde deshalb in das Semicarbazon übergeführt:

27 g Säure wurden mit 17 g Semicarbazidhydrochlorid, 10 g Natriumacetat, 5 g Natriumhydroxyd, 50 ccm Methylalkohol und 100 ccm Wasser 12 Stunden lang geschüttelt. Es hatte sich dann eine gummiartige Masse ausgeschieden, die sich nach dem Abfiltrieren und Durchschütteln mit

Digitized by Google

Äther in einen öligen, in Äther leicht löslichen und einen krystallinen, in Äther schwer löslichen, zerlegen ließ. Das so erhaltene krystallisierte Semicarbazon (12 g) schmolz nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol und Chloroform bei 173° und gab mit dem *Semicarbazon der ε-Cyclohexyl-δ-ketocapronsäure* keine Depression. Die daraus durch einstündiges Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure erhaltene Ketosäure schmolz jedoch unscharf um 48° statt bei 58°. Die Semicarbazonsäure mußte also durch eine andere Semicarbazonsäure verunreinigt gewesen sein, deren Beimengung keine merkliche Schmelzpunktsdepression bewirkte.

Die bei der Behandlung mit Semicarbazid ölig gebliebenen Anteile wurden mit methylalkoholischer Salzsäure verestert, wobei gleichzeitig vorhandene Semicarbazonsäuren gespalten wurden. Es entstand ein Ester vom Siedep.$_{13}$ 166—173° in einer Menge von 11 g. Er wurde sorgfältig fraktioniert; die niedrigste Fraktion (166—170°) lieferte beim Verseifen eine ölige Säure, aus der höher siedenden (172 bis 173°) entstand bei der Verseifung eine teilweise krystallisierende Säure; die Krystalle erwiesen sich als identisch mit ε-Cyclohexyl-δ-ketocapronsäure. Nach diesen Ergebnissen konnte kein Zweifel mehr sein, daß bei der Ozonisierung außer der identifizierten Ketosäure noch eine zweite, außerordentlich ähnliche entstanden war, die sich mit den üblichen Hilfsmitteln nicht abtrennen ließ. Da höher als 173°, 13 mm, siedende Ester nicht beobachtet wurden, war die Gegenwart von Cyclohexyl-adipinsäureester, der aus Δ_2- oder Δ_3-Cyclohexyl-cyclohexen hätte entstehen müssen, ausgeschlossen. Der dem Δ_1-Cyclohexyl-cyclohexen beigemengte Kohlenwasserstoff konnte also nicht das Kohlenstoffgerüst des Dicyclohexyls enthalten.

Versuche, durch Oximierung des öligen Säuregemisches und nachfolgende Beckmannsche Umlagerung die Konstitution der zweiten Ketosäure festzulegen, führten nicht zum Ziel.

Ozonisierung mit nachfolgender Beckmannscher Umlagerung.

30 g Kohlenwasserstoff wurden in mehreren Portionen mit der doppelten Menge Eisessig und der gleichen Gewichts-

Digitized by Google

menge Wasser versetzt und ozonisiert; Dauer 1 Stunde pro 1 g. Nach dem Neutralisieren mit Krystallsoda wurde das Reaktionsprodukt 2 Tage mit Äther extrahiert. Es wurde dann mit einer methylalkoholischen Lösung von freiem Hydroxylamin 2 Tage lang stehen gelassen. Nach dem Abdestillieren des Methylalkohols wurde mit Äther aufgenommen, die ätherische Lösung mit Wasser durchgeschüttelt und getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Äthers blieben 30 g eines hellgelb gefärbten öligen Oxims zurück, das nicht zum Krystallisieren zu bringen war.

Dieses Oxim wurde mit 250 ccm absolutem Äther gelöst und so lange langsam mit Phosphorpentachlorid versetzt, bis keine Reaktion mehr eintrat. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden stehen gelassen; dann wurde der Äther entfernt, Wasser zugegeben und nochmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung war dunkelbraun und mit Tierkohle nicht zu entfärben. Sie wurde auf mehrere Bombenröhren verteilt; nach dem Abdestillieren des Chloroforms, zuletzt im Vakuum bei Wasserbadtemperatur, blieben die Reaktionsprodukte als braunes Harz in einer Menge von 25 g zurück. Sie wurden durch 15 stündiges Erhitzen mit konz. Salzsäure auf 140° verseift.

Durch Ausschütteln mit Chloroform wurde eine Trennung der in Chloroform schwer löslichen Dicarbonsäuren von den in Chloroform leicht löslichen Monocarbonsäuren erreicht. Die Dicarbonsäuren verblieben neben den Hydrochloriden der bei der Verseifung gebildeten Amine in der wäßrigen Lösung; die letzten Reste wurden aus dem Chloroform noch durch zweimaliges Ausschütteln mit Wasser entfernt.

Untersuchung der wäßrigen Lösung. Durch 200 stündiges Extrahieren mit Äther wurden zunächst die Säuren vollständig herausgeholt. Dabei wurden 4 g krystallisierte Säuren erhalten, deren Hauptbestandteil Adipinsäure war. Aus den letzten Mutterlaugen, die beim Umkrystallisieren aus Wasser anfielen, kam ein unscharf von 80—145° schmelzendes Säuregemisch heraus; es gelang jedoch nicht, daraus die vermutete Glutarsäure zu isolieren und zu identifizieren.

Die Amine wurden durch 30 stündige Extraktion der

Digitized by Google

nunmehr alkalisch gemachten wäßrigen Lösung mit Äther entzogen und aus der getrockneten ätherischen Lösung mit gasförmigen Chlorwasserstoff als Hydrochloride ausgefällt, diese vom Chlorammonium durch Lösen in Alkohol getrennt, und aus der alkoholischen Lösung wieder mit Äther gefällt. Ausbeute 2,5 g. Die aus den Hydrochloriden wieder in Freiheit gesetzen Amine wurden mit Benzoesäureanhydrid benzoyliert. Durch mehrmaliges Umkrystallisieren der Benzoylverbindungen aus Tetrachlorkohlenstoff wurden würfelförmige Krystalle vom Schmelzp. 154° erhalten; krystallisierte man sie von neuem aus wäßrigem Äthylalkohol um, so bildete der Stoff Nadeln und schmilzt bei 147°. Er war, wie durch den Mischschmelzpunkt erwiesen wurde, identisch mit dem Benzoylcyclohexylamin. Aus den Mutterlaugen herauskommende Krystalle schmolzen wesentlich tiefer und unscharf. Eine zweite Benzoylverbindung ließ sich aber nicht in reinem Zustande herausarbeiten. (Benzoyl-cyclohexyl-methylamin[1]) schmilzt, wie durch ein eigens dazu hergestelltes Präparat festgestellt wurde, bei 107° und damit noch niedriger, als die niedrigst schmelzenden Fraktionen aus den Mutterlaugen; es kann also, wenn überhaupt, nur in sehr geringer Menge zugegen sein).

Untersuchung der Chloroformlösung. In der Chloroformlösung befinden sich neben den Monocarbonsäuren noch die Aminosäuren als Lactame. Die Monocarbonsäuren wurden durch Schütteln mit Natronlauge herausgeholt; auf die nähere Untersuchung der in Chloroform verbleibenden Aminosäuren wurde nach einigen, wenig Erfolg versprechenden Vorversuchen verzichtet. Die wäßrige, natronalkalische Lösung wurde wiederum angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt und die nach dem Verdampfen des Äthers zurückbleibenden Säuren zur Reinigung in die Calciumsalze übergeführt. Aus den Calciumsalzen wieder in Freiheit gesetzt, erwiesen sie sich als ein bei tiefer Temperatur teilweise krystallisierendes Gemisch, das als solches nicht zu trennen war.

---

[1]) Gutt, B. 40, 2068 (1907). Diese Verbindung ist weder im Beilstein, noch im Stelzner registriert.

Digitized by Google

Sie wurden deshalb mit Thionylchlorid in ihre Chloride und diese weiter in ätherischer Lösung bei -80° mit etwas flüssigem Ammoniak in die Amide verwandelt. Die Säureamide, die sich unter dem Mikroskop als Gemische erwiesen, wurden durch fraktioniertes Auskochen, zunächst mit Petroläther Siedep. 60°, dann mit Tetrachlorkohlenstoff in zwei etwa gleich große Anteile zerlegt. Das schwerer lösliche Amid krystallisierte in gefiederten, glänzenden Plättchen und schmolz bei 186°. Durch den Mischschmelzpunkt und Vergleich der Krystalle unter dem Mikroskop wurde es mit *Hexahydrobenzamid* identifiziert. Das leichter lösliche kam aus Tetrachlorkohlenstoff in kleinen Plättchen, gewöhnlich mit dem Umriß eines Rhombus heraus und schmolz bei 167—168°; weiteres Umkrystallisieren änderte den Schmelzpunkt nicht mehr. Dieser Schmelzpunkt wird in der Literatur für Cyclohexyl-essigsäureamid angegeben. Daraufhin wurde dieser Stoff auf dem von Wallach vorgeschriebenen Wege: Cyclohexanol-essigester → Cyclohexenyl-essigester → Cyclohexyl-essigester → säure → chlorid → amid synthetisiert und im Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, sowie der Krystallform unter dem Mikroskop als identisch mit dem oben erhaltenen Säureamid erkannt.

II. Wasserabspaltung aus cis- und trans-o-Cyclopentyl-cyclopentanol.

Von Walter Hückel und Achim Gercke.

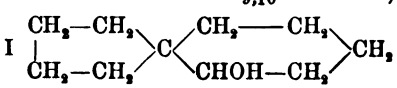
Zelinsky[1]) erhielt bei einem Versuch, aus Cyclopentylcyclopentanol den Kohlenwasserstoff Dicyclopentyl darzustellen, statt dessen ein Gemisch von cis- und trans-Dekalin. Bei der von ihm durchgeführten, in ihren einzelnen Stufen nicht näher studierten Reaktionsfolge ist es nicht möglich zu erkennen, wo eigentlich die überraschende Umwandlung des Ringsystems stattgefunden hat. Zelinsky ließ nämlich auf Cyclopentanon in feuchter ätherischer Lösung Natrium einwirken und erhielt neben Cyclopentanol einen gesättigten Alkohol $C_{10}H_{18}O$. Diesen sah er zunächst, ohne

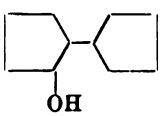
[1]) Zelinsky, Titz u. Fatejew, B. 59, 2580 (1926).

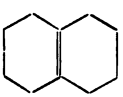
Digitized by Google

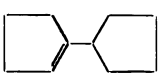
ihn näher zu charakterisieren, als Cyclopentyl-cyclopentanol an, behandelte ihn mit Eisessig—Jodwasserstoff und reduzierte dann mit Zinkstaub zum Kohlenwasserstoff, der sich als *Dekalin* und verschieden von einem nach Fittig dargestellten *Dicyclopentyl* erwies. Bei der Erörterung dieses Versuchsergebnisses hält es Zelinsky für wahrscheinlich, daß die fragliche Umlagerung bei der Reduktion des Jodids mit Zinkstaub eintritt, kann aber die Möglichkeit nicht ausschließen, daß sein Ausgangsmaterial, der Alkohol $C_{10}H_{18}O$, eine andere Struktur als die des Cyclopentyl-cyclopentanols hat. Wenn in diesem Alkohol ein Oxyspiro-cyclodekan (I) vorläge, wie es Zelinsky für möglich hält, so bietet die beobachtete Umlagerung bei der Kohlenwasserstoffbildung als normale Retropinakolinumlagerung nichts Überraschendes mehr; es bleibt dann freilich ungeklärt, wie ein solcher spirocyclischer Alkohol aus dem Cyclopentanon entstehen kann.

Die von Zelinsky gemachte Beobachtung war der Anlaß, den Verlauf der Wasserabspaltung aus dem Cyclopentyl-cyclopentanol (II) zu untersuchen. Denn es ist dabei, da die Reaktion in der thermischen Zersetzung des Esters einer starken Säure besteht, die Möglichkeit einer Umlagerung gegeben, die der bei der Umsetzung des Jodids (oder gar schon bei dessen Bildung) erfolgenden analog ist. Der entstehende ungesättigte Kohlenwasserstoff wäre dann mit dem schon auf anderem Wege erhaltenen und leicht zu identifizierenden $\Delta_{9,10}$-Oktalin[1]) (III) identisch:

I 

II 

III 

IV 

Die Abspaltung von Wasser aus Cyclopentylcyclopentanol ist schon einmal von Wallach[2]) durchgeführt

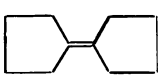
[1]) Hückel, Danneel, Schwartz u. Gercke, A. 474, 121 (1929).
[2]) A. 389, 178 (1912).

Digitized by Google

worden. Wallach erhielt bei der Anwendung von Zinkchlorid als wasserabspaltendem Mittel schon unter verhältnismäßig milden Bedingungen (einstündige Einwirkung bei 150°) einen ungesättigten Kohlenwasserstoff, den er als das normale Produkt der Wasserabspaltung, als Cyclopentylcyclopenten, ansprach und in Übereinstimmung mit der angenommenen Formel durch ein *weißes*, wenig reaktionsfähiges Nitrosochlorid vom Schmelzp. 113—114° charakterisierte.[1]) Da nun das $\Delta_{9,10}$-Oktalin ein *blaues*, krystallisiertes Nitrosochlorid vom Schmelzp. 91° bildet, so scheint es, als ob trotz der Anwendung von Zinkchlorid, das von den Wasserabspaltungsmitteln gewöhnlich am stärksten umlagernd wirkt, keine Umlagerung eingetreten sei.

Immerhin ist die Untersuchung von Wallach insofern nicht vollständig, als bei ihr auf die mögliche cis-trans-Isomerie des Cyclopentyl-cyclopentanols keine Rücksicht genommen worden ist. Da sich nun aber, wie die Erfahrungen beim Cyclohexyl-cyclohexanol gelehrt haben, cis-trans-isomere Alkohole bei der Wasserabspaltung verschieden verhalten, erschien es durchaus im Bereiche der Möglichkeit liegend, daß entweder aus dem cis- oder aus dem trans-Cyclopentyl-cyclopentanol $\Delta_{9,10}$-Oktalin entsteht. Die Wallachsche Untersuchung wurde deshalb in dieser Richtung weitergeführt.

Als Ausgangsmaterial diente wie bei Wallach das Cyclopentyl-cyclopentanon, dargestellt durch katalytische Hydrierung des aus Cyclopentanon gewonnenen Cyclopentyliden-cyclopentanons. An der Konstitution des gesättigten Ketons kann nach der von Wallach durchgeführten Oxydation zur δ-Cyclopentyl-δ-keto-n-valeriansäure, die sehr glatt verläuft, kein Zweifel mehr sein. Aus diesem Keton wurden die beiden stereoisomeren Alkohole in der bekannten Weise gewonnen: Durch katalytische Hydrierung

[1]) Cyclopentyliden-cyclopentan  , das unter Verschiebung der Doppelbindung hätte entstehen können, hätte nach einer von Thiele [B. 27, 454 (1894)] angegebenen Regel ein *blaues*, krystallisiertes Nitrosochlorid liefern müssen.

Digitized by Google

in essigsaurer Lösung entsteht ein an cis-Alkohol reiches Stereoisomerengemisch, bei der Reduktion mit Natrium in alkoholischer Lösung — dem von Wallach benutzten Verfahren — ein an trans-Alkohol reiches. Einheitliche Stoffe entstehen in keinem Falle, und die Reinigung des jeweils in größerer Menge entstandenen Isomeren über den sauren Phtalsäureester ist deshalb zeitraubend; schätzungsweise sind nach beiden Methoden etwa 80 Proc. des gewünschten Isomeren entstanden. Wallach hat also, da er keine Trennung vornahm, mit einem Gemisch von 80 Proc. trans- und 20 Proc. cis-Cyclopentyl-cyclopentanol gearbeitet. Die beiden reinen Stereoisomeren haben fast genau die gleichen physikalischen Eigenschaften: Dichte, Brechungsindex und Viscosität; die für die beiden ersteren gefundenen Werte stimmen ausgezeichnet mit den von Wallach beim Gemisch ermittelten überein. Das cis-Cyclopentyl-cyclopentanol schmilzt bei 28°; das trans-Isomere war bisher nicht krystallisiert zu erhalten. Die aus den reinen Alkoholen dargestellten Derivate sind verschieden und vollkommen einheitlich.

Aus diesen reinen Alkoholen wurde genau nach der Wallachschen Vorschrift mittels Chlorzink Wasser abgespalten. Das trans-Cyclopentyl-cyclopentanol gibt dabei einen praktisch einheitlichen Kohlenwasserstoff, der in Kohlensäureschnee rasch erstarrt. Sein Brechungsindex stimmt praktisch mit dem von $\Delta_{9,10}$-Oktalin überein. Mit Nitrosylchlorid entsteht aus dem Kohlenwasserstoff das charakteristische blaue Nitrosochlorid des $\Delta_{9,10}$-Oktalins vom Schmelzp. 91°, die Ozonisierung liefert fast quantitativ Cyclo-dekandion. Es ist also reines $\Delta_{9,10}$-*Oktalin* entstanden.

Das cis-Cyclopentyl-cyclopentanol wird in einen Kohlenwasserstoff umgewandelt, der in Kohlensäureschnee nur langsam erstarrt und bei sehr niedriger Temperatur bereits wieder auftaut. Auch sein Brechungsindex ist mit dem von $\Delta_{9,10}$-Oktalin fast identisch. Mit Nitrosylchlorid entsteht aber ein Gemisch von weißen und blauen Nitrosochlorid, in dem das letztere weitaus überwiegt. Beim Umkrystallisieren aus Aceton kommt jedoch das sehr schwer

Digitized by Google

lösliche weiße Nitrosochlorid vom Schmelzp. 111° zuerst heraus; das in den Mutterlaugen enthaltene blaue hat wieder den Schmelzp. 91° und ist mit dem Nitrosochlorid des $\Delta_{9,10}$-Oktalins identisch. Auch hier ist also das Oktalin in überwiegender Menge entstanden.

Im Gegensatz zu den beiden Cyclohexyl-cyclohexanolen, bei denen die normale Wasserabspaltung die Hauptreaktion ist, liefern die beiden Cyclopentyl-cyclopentanole das durch anomale Reaktion entstehende $\Delta_{9,10}$-Oktalin als Hauptprodukt. Die Geschwindigkeit des normalen Verlaufs der Reaktion ist aber in beiden Reihen bei den cis-Alkoholen verhältnismäßig größer.

Beschreibung der Versuche.

Cyclopentanon, aus Adipinsäure nach Vavon[1]), wurde nach den Angaben von Wallach[2]) über das Cyclopentyliden-cyclopentanon (Oxim, Schmelzp. 127°) in Cyclopentyl-cyclopentanon (Oxim, Schmelzpunkt 78—79°) übergeführt. Ausbeute 105 g aus 230 g Cyclopentanon. Durch Reduktion mit Natrium in absolut alkoholischer Lösung wurde daraus das an trans-Cyclopentyl-cyclopentanol reiche Stereoisomerengemisch gewonnen. Das an cis-Alkohol reiche Gemisch wurde bei der Hydrierung mit kolloidem Platin nach Skita erhalten: 40 g Keton in 130 ccm Eisessig, 40 ccm konz. HCl, nahmen mit 0,5 g Platin als Kolloid (in 65 ccm Wasser) und 1 g Platin als Platinchlorwasserstoffsäure bei 20° während 1½ Stunden 6,7 Liter H_2 auf (ber. 6,2 Liter); Ausbeute an rohem Alkohol 37 g.

Die Reinigung über den Phtalsäureester wurde bei beiden Alkoholen nach dem gleichen Verfahren durchgeführt. Das Stereoisomerengemisch wurde mit der gleichen Gewichtsmenge Phtalsäureanhydrid 4 Stunden auf 140° erhitzt. Die Schmelze wurde in Petroläther, Siedep. 40°, gegossen, der den nicht umgesetzten Alkohol (etwa ½ der angewandten Menge) aufnimmt; der ungelöst bleibende Rückstand wurde mit Wasser erwärmt und dann mit Benzol ausgezogen. Beim Verdunsten des Benzols, zuletzt im Vakuum, kommt der größte Teil des Phtalesters krystallin heraus, die letzten Anteile bleiben jedoch ölig. Der krystallisierte Ester wird aus Petroläther, Siedep. 60°, umkrystallisiert.

Der *Phtalsäureester des cis-Cyclopentyl-cyclopentanols* krystallisiert schwer und ist erst nach oftmaligem Umkrystalli-

[1]) Bl. 43, 668 (1928); Organic Synthesis 5, 37 (1925).
[2]) A. 389, 178 (1912).

Digitized by Google

sieren auf einen einigermaßen konstanten Schmelzp. 93—95° zu bringen. Die erstarrte Schmelze zeigt bei nochmaligem Erwärmen einen unscharfen Schmelzpunkt, der zwischen 93 und 110° liegt; anscheinend liegt Polymorphie vor (vgl. die Beobachtungen von Vavon[1]) über die Polymorphie des Phtalsäureesters des cis-Cyclohexyl-cyclohexanols). Denn bei der Verseifung, die sehr langsam vor sich geht, entsteht reines cis-Cyclopentyl-cyclopentanol, das nach dreimonatigem Stehen erstarrte und scharf bei 28° schmolz.

Der *Phtalsäureester des trans-Cyclopentyl-cyclopentanols* ist verhältnismäßig leicht zu reinigen und schmilzt bei 111°. Durch Verseifung, die wesentlich rascher verläuft, entsteht das reine trans-Cyclopentyl-cyclopentanol, das nicht krystallisiert.

cis-Ester, Schmelzp. 93—95°:

4,659 mg Subst.: 12,270 mg CO_2, 3,08 mg H_2O.

$C_{18}H_{22}O_4$ Ber. C 71,48 H 7,34
Gef. „ 71,83 „ 7,40.

trans-Ester, Schmelzp. 111°:

4,870 mg Subst.: 12,650 mg CO_2, 3,18 mg H_2O.

Gef. C 70,84 H 7,34.

Phenylurethan der cis-Verbindung, Schmelzp. 86°:

3,205 mg Subst.: 0,150 ccm N_2 (22°, 745 mm).

$C_{17}H_{23}O_2N$ Ber. N 5,13 Gef. N 5,38.

Phenylurethan der trans-Verbindung, Schmelzp. 92,5°.

3,596 mg Subst.: 0,170 ccm N_2 (22°, 746 mm).

$C_{17}H_{23}O_2N$ Ber. N 5,13 Gef. N 5,37.

Wallach gibt als Schmelzpunkt des Phenylurethans, das er aus dem rohen trans-Alkohol erhalten hat, 88—89° an.

cis-Toluolsulfosäureester, Schmelzp. 51° (aus Petroläther); zersetzlich:

14,370 mg Subst.: 11,000 mg $BaSO_4$.

$C_{17}H_{24}O_3S$ Ber. S 10,40 Gef. S 10,52.

trans-Toluolsulfosäureester, Schmelzp. 44—47°, beständig:

12,690 mg Subst.: 9,550 mg $BaSO_4$.

$C_{17}H_{24}O_3S$ Ber. S 10,40 Gef. S 10,34.

[1]) Bl. [4], **39**, 1138 (1926).

Digitized by Google

cis-Cyclopentyl-cyclopentanol, Siedep.$_{18}$ 113°.

$d_4^{21,7} = 0{,}9730$; $n_{He}^{21,9} = 1{,}48772$; $M_D = 45{,}58$ (ber. 45,50).

Viscosität bei 20° 32,0; bei 40° 16,95; bei 60° 10,72 (bezogen auf $H_2O = 1$ bei denselben Temperaturen).

trans-Cyclopentyl-cyclopentanol, Siedep.$_{12}$ 112—113°.

$d_4^{16,2} = 0{,}9792$; $n_{He}^{17,8} = 1{,}48878$; $M_D = 45{,}48$ (ber. 45,45).

Viscosität bei 20° 34,6; bei 40° 18,5; bei 60° 11,85.

Wallach hat gefunden:

$d_4^{17} = 0{,}9785$; $n_D^{17} = 1{,}4884$; $M_D = 45{,}43$.

Die Wasserabspaltung wurde bei beiden Isomeren durch 1stündiges Erhitzen mit der doppelten Menge Chlorzink bei 140° durchgeführt.

Der aus dem cis-Alkohol erhaltene Kohlenwasserstoff, Siedepunkt$_{730}$ 190°, hatte $n_{He}^{16,5} = 1{,}50047$, daraus $n_{He}^{20} = 1{,}499$; der aus dem trans-Alkohol entstehende Siedep.$_{730}$ 192°, $n_{He}^{17,6} = 1{,}49964$, daraus $n_{He}^{20} = 1{,}499$. Reines $\Delta_{9,10}$-Oktalin hat $n_{He}^{20} = 1{,}499$. Es besteht hier eine erhebliche Differenz mit dem von Wallach gefundenen Wert $n_D^{19,5} = 1{,}4938$, daraus $n_D^{20} = 1{,}493$.

Die Identifizierung des $\Delta_{9,10}$-Oktalins erfolgte durch Vergleich des Nitrosochlorids (Schmelzp. 91°), sowie durch das bei der Ozonisierung erhaltene Cyclodekandion (Schmelzpunkt 100°) im Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt.

Der Kohlenwasserstoff, der aus dem cis-Alkohol erhalten worden war, gab neben dem blauen Nitrosochlorid des Oktalins in geringer Menge auch ein weißes vom Schmelzp. 111°, das wohl mit dem von Wallach beschriebenen (Schmelzp. 113—114°) identisch ist. Ob der diesem Nitrosochlorid zugehörige Kohlenwasserstoff das normale Wasserabspaltungsprodukt, das Cyclopentyl-cyclopenten, ist, mag vorläufig als wahrscheinlich angenommen werden, ist aber noch zu beweisen.

III. Über das Verhalten der Ester sekundärer Alkohole bei der Hydrolyse und beim thermischen Zerfall.

Von Walter Hückel und Ernst Frank.[1])

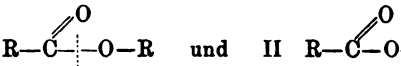
Von den Umwandlungen der Ester sind die wichtigsten Hydrolyse unter Aufnahme der Elemente des Wassers und

[1]) Inaug.-Diss. Göttingen 1927.

Digitized by Google

thermischer Zerfall unter Bildung von Säure und ungesättigtem Kohlenwasserstoff. Beide Reaktionen können bei Gegenwart von Wasser nebeneinander herlaufen, jedoch sind die Geschwindigkeiten der hydrolytischen und der Zerfallsreaktion meist so verschieden, daß man praktisch je nach der Natur des Esters nur die eine Reaktion beobachtet.

Die Zerfallsreaktion greift stets an dem Kohlenstoffatom an, das die Hydroxylgruppe des zugehörigen Alkohols trägt. Bei der Verseifung bestehen prinzipiell zwei Reaktionsmöglichkeiten, wenn Ester von Sauerstoffsäuren vorliegen, z. B.



Im Fall I wird nur das Säureradikal, im Fall II auch das Sauerstoffatom, das die Bindung mit dem Alkylrest des Alkohols besorgt, abgelöst. An welcher Stelle das Molekül nun wirklich angegriffen wird, ist eine schon seit langem erörterte Frage[1]), die aber systematisch bisher noch nicht studiert worden ist.

Ein Weg, auf dem eine Lösung möglich erscheint, ist von Holmberg[2]) angegeben worden. Wenn das hydroxyltragende Kohlenstoffatom des veresterten Alkohols asymmetrisch ist, sind die Stellungen der einzelnen Substituenten an ihm gewissermaßen markiert. Greift nun die Reaktion an der C—O-Bindung des Alkohols an, so liegt die Möglichkeit einer Waldenschen Umkehrung vor; untersucht man nun genügend viele Verbindungen, so werden sich sicher solche finden, bei denen ganz oder teilweise Waldensche Umkehr eintritt. Bei *einer* Gruppe von Estern läßt sich bereits auf Grund vorliegenden umfangreichen Materials eine, wie es scheint, eindeutige Entscheidung treffen, nämlich bei den Carbonsäureestern. Hier ist niemals

[1]) van't Hoff, Vorlesungen über theoret. u. physikal. Chemie, 2. Aufl., 3. Heft, S. 138 (1903); vgl. dazu Skrabal, Brunner u. Airoldi, Ph. Ch. **111**, 127 (1924); Skrabal u. Hugetz, M. **47**, 31 (1926); Hückel, Z. Ang. **39**, 842 (1926).

[2]) B. **45**, 2997 (1912).

Digitized by Google

bei der Veresterung optisch aktiver Alkohole und bei der Wiederverseifung der Ester ein Fall bekannt geworden, der zu Zweifeln über die Reinheit des Stoffes und seiner Identität mit dem Ausgangsprodukt Veranlassung gegeben hätte.[1])

Den durch das Ausbleiben der Waldenschen Umkehrung weitgehend gestützten Anschauungen über den Verlauf der Verseifung der Carbonsäureester stehen nur die Ansichten von Skrabal[2]) gegenüber. Skrabal kommt auf Grund kinetischer Messungen und Vergleich der sauren und alkalischen Hydrolyse der Äther, Anhydride und Ester zu dem Schluß, daß die Verseifung der Ester an beiden möglichen Stellen mit annähernd gleicher Geschwindigkeit einsetze. In seine recht schematischen Schlußfolgerungen darf man zum mindesten sehr erhebliche Zweifel setzen, und sie sollen daher hier nicht weiter berücksichtigt werden.[3])

In der vorliegenden Arbeit sind nun die Ester anderer Säuren, starker wie schwacher, untersucht worden, nämlich der *p-Toluolsulfosäure*, *Phosphorsäure*, *phosphorigen Säure*, *Oxalsäure*, *Borsäure*, *Kieselsäure*. Die damit veresterten Alkohole waren sämtlich sekundäre Alkohole mit mehreren asymmetrischen Kohlenstoffatomen, bei denen eine Waldensche Umkehrung nicht zum optischen Antipoden, sondern zu einem Diastereomeren führt.

Für die Darstellung der Ester wurde eine Reaktion gewählt, bei der ein Konfigurationswechsel ausgeschlossen ist, weil das Asymmetriezentrum dabei überhaupt nicht berührt wird, nämlich die Umsetzung des Säurechlorids mit Alkohol:

$$\text{Acyl}-\underline{\text{Cl} + \text{H}}-\text{O}-\overset{*}{\text{R}} = \text{Acyl}-\text{O}-\overset{*}{\text{R}} + \text{HCl}.$$

Dann ist sicher, daß etwa beobachteter Konfigurationswechsel bei der Verseifungsreaktion eintritt.

[1]) Vgl. dazu E. Fischer, A. 394, 360 (1912).

[2]) Skrabal u. Hugetz, M. 47, 17 (1926); Z. Elektrochem. 33, 337 (1927); Skrabal u. Belavic, Z. f. phys. Ch. 103, 451 (1923) u. a.

[3]) Eine ausführliche Erörterung findet sich in der Dissertation von E. Frank, Göttingen 1927.

Digitized by Google

Die Ester der p-Toluolsulfosäure. Als die Versuche über die Verseifung der Toluolsulfosäureester im Gange waren, deren Ziel war festzustellen, ob der von Phillips[1]) entdeckte Fall der Waldenschen Umkehrung bei der Umesterung des Benzylmethylcarbinols eine Ausnahmestellung[2]) einnimmt oder nicht, erschienen Arbeiten von Phillips[3]), ferner von Gough, Hunter und Kenyon[4]), die die einwandfreie Bestätigung erbrachten, daß Konfigurationswechsel bei der Hydrolyse der Sulfosäureester möglich ist.

Je nach den Versuchsbedingungen, unter denen Hydrolyse oder Umesterung vorgenommen werden, ist der Betrag, zu dem die Verbindung Konfigurationswechsel erleidet, verschieden; um ein Beispiel herauszugreifen, liefert der d-Toluolsulfosäureester des l-Menthols mit Eisessig überwiegend l-Menthol, mit Ammoniumacetat in der Hauptsache d-Neomenthol (als Acetat). Stets tritt neben der Umesterung thermische Zersetzung der Ester während der sehr langen Dauer der Reaktion ein, je nach der Natur des Esters und der Reaktionsbedingungen in verschiedenem, meist aber sehr erheblichem Ausmaß. Der am asymmetrischen Kohlenstoff angreifenden Substitution läuft als Konkurrenzreaktion eine Abspaltungsreaktion parallel. Daß gleichzeitig auch noch *Umlagerungsreaktionen* möglich sind, zeigt das Beispiel des Toluolsulfosäureesters des Fenchylalkohols; neben 96 Proc. Kohlenwasserstoff, meist α-Fenchen, entstehen bei der Verseifung mit Kaliumhydroxyd 4 Proc. eines Alkohols, der weder mit dem gewöhnlichen Fenchylalkohol, noch mit dessen Diastereomeren, dem β-Fenchylalkohol, identisch ist. Zur Konstitutionsbestimmung reichte die erhaltene Menge nicht aus.

Da die Umkehrerscheinungen bei der Hydrolyse der Toluolsulfosäureester von den genannten englischen Autoren in genügendem Umfange untersucht worden sind, wurde

---

[1]) Soc. **123**, 44 (1923).

[2]) Vgl. Walden, B. **58**. 260 (1925).

[3]) Kenyon, Phillips u. Turley, Soc. **127**, 399 (1925); Phillips, Soc. **127**, 2565 (1925).

[4]) Soc. **1926**, 2052.

Digitized by Google

außer dem angeführten Beispiel des Fenchylalkohols kein weiteres mehr studiert. Dagegen wurde der verschiedenen Beständigkeit einer Reihe von Toluolsulfosäuren erhöhte Beachtung geschenkt, weil sich gezeigt hatte, daß die Geschwindigkeit der thermischen Zersetzung sehr stark vom räumlichen Bau des Moleküls abhängt. Die von seiten anderer Autoren vorliegenden Beobachtungen ließen keine Besonderheiten erkennen; es wird nur angegeben, daß sich die Ester bei etwa 160° in Kohlenwasserstoff und Säure zu zersetzen beginnen.

Eine einzige Ausnahme macht der Chlorcymol-sulfosäureester des Isoborneols, der nach den Beobachtungen von Meerwein[1]) außerordentlich unbeständig ist, weil er sich rasch zum Ester des Camphenhydrats isomerisiert, der momentan zerfällt. Eine etwas ausgedehntere Untersuchung zeigte nun, daß die Toluolsulfosäureester sehr beständig sind, wenn sich zwei Methylengruppen neben der Estergruppe befinden; dies gilt für das cis-β-Dekalol, Schmelzpunkt 105°, das trans-β-Dekalol, Schmelzp. 75° und das trans-β-Dekalol, Schmelzp. 53°. In Übereinstimmung damit haben Gough, Hunter und Kenyon[2]) keine auffallenden Beobachtungen an den Estern der 1,3- und 1,4-Methylcyclohexanole gemacht. Steht ein Alkylrest benachbart zur Estergruppe, so ist die Beständigkeit ebenfalls groß, wenn sich der Alkylrest in trans-Stellung befindet, so beim trans-α-Dekalol, Schmelzp. 63° und beim l-Menthol, Schmelzp. 43°. Steht er dagegen in cis-Stellung, so sind die Toluolsulfosäureester unbeständig und spalten sich leicht in Kohlenwasserstoff und Säure, so daß man sogar bei ihrer Darstellung Schwierigkeiten hat. Zu den in dieser Arbeit beschriebenen Beispielen des Esters vom cis-α-Dekalol, Schmelzp. 93°, der besonders labil ist, und des Esters vom trans-α-Dekalol, Schmelzp. 49°, kommen aus den vorhergehenden beiden Arbeiten noch die Ester des cis-o-Cyclohexylcyclohexanols und des cis-o-Cyclopentyl-cyclopentanols; im Zusammenhang damit ist es auffallend, daß die englischen

[1]) A. 453, 21 (1927). [2]) A. a. O.

Digitized by Google

Autoren keinen Toluolsulfosäureester des cis-o-Methylcyclohexanols beschrieben haben.

Die neutralen Ester der Phosphorsäure sind, wie auch sonst beobachtet worden ist, außerordentlich beständig. Die Ester des l-Fenchylalkohols und des trans-β-Dekalols, Schmelzp. 75°, die zur Untersuchung gelangten, erlitten bei 160—170° in Gegenwart von alkoholischer Kalilauge weder Hydrolyse, noch thermische Zersetzung.

Die Ester der phosphorigen Säure werden leicht, und zwar ohne Konfigurationsänderung verseift. Deshalb hat auch Wallach[1]) den Phosphorigsäureester des l-Fenchylalkohols zur Reindarstellung dieses Alkohols benutzen können.

Die Ester der Oxalsäure, einer starken organischen Säure, bilden sich ohne sterische Umlagerung und werden auch ohne Konfigurationsänderung verseift; man kann sie daher, wie es auch schon früher geschehen ist, zur Reinigung von Diastereomeren verwenden.

Die Ester der Borsäure werden neuerdings in der Technik zur Abscheidung und Reinigung von Alkoholen, z. B. Menthol, Borneol, Geraniol, benutzt.[2]) Dabei werden die Alkohole stets in optisch reiner Form erhalten; es tritt also keine Konfigurationsänderung bei der Bildung wie bei der Verseifung ein. Zur Bestätigung wurden analoge Versuche am l-Fenchylalkohol und trans-α-Dekalol, Schmelzp. 63°, mit dem gleichen Ergebnis vorgenommen. Bei dem Versuch, das Verfahren zur Darstellung der Borsäureester — unmittelbare Einwirkung von Borsäure auf den Alkohol — auch auf andere isomere Dekalole zu übertragen, zeigte sich merkwürdigerweise, daß das cis-α-Dekalol, Schmelzpunkt 93°, das cis-β-Dekalol, Schmelzp. 105°, und das trans-β-Dekalol, Schmelzp. 75°, mit Borsäure nicht reagierten; ebenso verhielt sich das zur Kontrolle herangezogene Cyclohexanol. Dagegen verlief die Reaktion bei den in dem genannten Patent angeführten Alkoholen Menthol und Borneol ganz glatt.

Die Ester der Orthokieselsäure werden in alkalischer

[1]) A. **284**, 332 (1894).

[2]) Anton Deppe Söhne, C. **1926**, II, 1786.

Digitized by Google

Lösung gar nicht, in saurer sehr schnell hydrolysiert. Sie verhalten sich in dieser Hinsicht wie die Orthokohlensäureester; hier fand Skrabal[1]) für das orthokohlensaure Äthyl die Konstante der alkalischen Hydrolyse gleich der Konstanten der rein wäßrigen Spaltung $k_w = 3{,}4 \cdot 10^{-4}$, während die Konstante der sauren Verseifung $k_s = 1{,}2 \cdot 10^4$ ist. Welche Bindung bei dieser Hydrolyse gespalten wird, erörtert Skrabal nicht. Bei den fünf untersuchten Orthokieselsäureestern, die aus Alkohol und Siliciumtetrachlorid dargestellt wurden, ergab sich für den aus der Hydrolyse hervorgehenden Alkohol die Konfiguration des Ausgangsmaterials. Die Lösung der Bindung in den Orthokieselsäureestern erfolgt demnach aller Wahrscheinlichkeit nach zwischen Si und O.

Beschreibung der Versuche.

p-Toluolsulfosäureester.

Bei der Darstellung der Toluolsulfosäureester wurde im allgemeinen[2]) folgende Vorschrift eingehalten: 4 Teile $C_{10}H_{17}OH$ werden in 6 Teilen Pyridin gelöst und mit 5 Teilen gepulvertem p-Toluolsulfochlorid allmählich unter Kühlung versetzt. Nach einigen Tagen wird die Mischung in die berechnete Menge eisgekühlter, 10-proc. Schwefelsäure eingegossen, der krystallin ausfallende Ester abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen und aus Methylalkohol umkrystallisiert.

Ester aus	Schmelzp. °	g Subst.	g $BaSO_4$	% S gef.	ber.
Cyclohexanol . . .	44—45	0,1607	0,1490	12,73	12,61
l-Fenchylalkohol[3]) . .	97—98	0,1702	0,1332	10,75	10,40
cis-α-Dekalol, 93° . .	96	0,1795	0,1360	10,41	10,40
trans-α-Dekalol, 63° .	99—100	0,1093	0,0824	10,35	10,40
trans-α-Dekalol, 49°[4])	68—69	13,855 mg	10,400 mg	10,31	10,40
cis-β-Dekalol, 105° .	77—78	0,1705	0,1321	10,64	10,40
trans-β-Dekalol, 75° .	63	9,350 mg	7,110 mg	10,44	10,40
trans-β-Dekalol, 53° .	111	13,540 mg	10,255 mg	10,40	10,40

[1]) Skrabal u. Baltadschiewa, M. 45, 95 (1924).

[2]) Über die geringfügigen Abänderungen beim Cyclohexanol und cis-α-Dekalol, 93°, vgl. die Dissertation von E. Frank.

[3]) Vorher über dem krystallisierten Oxalsäureester gereinigt.

[4]) Über die Darstellung dieses Dekalols vgl. den Anhang.

Digitized by Google

Verhalten der einzelnen Ester.

Ester des Cyclohexanols: Behandlung mit Wasser, verdünntem Alkali, verdünnter Salzsäure, konz. Na-Acetatlösung, konz. Kupferacetatlösung, konz. Barytwasser, frisch gefälltem Bleihydroxyd während 80—100 Stunden bei 100° ergab *Cyclohexen*. Nur bei gleicher Behandlung mit konz. Bleiacetatlösung und mit 5-proc. Essigsäure fanden sich neben Cyclohexen nennenswerte Mengen *Cyclohexylacetat*.

Ester des l-Fenchylalkohols. a) 60 g Ester wurden mit 15-proc. Natronlauge während 25 Stunden im Autoklaven bei 125—130° geschüttelt. b) 120 g Ester wurden mit 15-proc. Natronlauge 170 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die Aufarbeitung ergab in beiden Fällen dasselbe Bild. Siedepunkt zwischen 151 und 208°, in der Hauptmenge Kohlenwasserstoff vom Siedep. 153—160°, und nur 4 Proc. Alkohol vom Siedep. 195—208°. Der Kohlenwasserstoff war gegen Permanganat stark ungesättigt und gab mit Brom glatt ein Dibromid vom Schmelzpunkt 88°, ist also *α-Fenchen*.[1])

Der Alkohol wurde in Pyridinlösung mit p-Nitrobenzoylchlorid umgesetzt; es entstand dabei ein Nitrobenzoylderivat vom Schmelzpunkt 123°.

5,119 mg Subst.: 12,635 mg CO_2, 3,16 mg H_2O. — 2,763 mg Subst.: 0,118 ccm N_2 (21°, 741 mm).

$C_{17}H_{21}O_4N$	Ber.	C 67,31		H 6,98		N 4,62
	Gef.	„ 67,34		„ 6,91		„ 4,83.

Der Alkohol ist ein dem Fenchylalkohol $C_{10}H_{17}OH$ isomerer Stoff, der aber eine andere Struktur haben muß, denn die p-Nitrobenzoesäureester der beiden diastereomeren Fenchylalkohole, die man aus dem Fenchon durch alkalische Reduktion erhält, schmelzen bei 108 bis 109° bzw. bei 82—83°.[2])

c) Mit kleineren Mengen Ester ausgeführte Umesterungsversuche nach der Arbeitsmethode von Phillips[3]) gaben ebenfalls fast ausschließlich α-Fenchen.

Ester des cis-α-Dekalols, 93°. Nach vorsichtigem Umkrystallisieren aus Methylalkohol, wobei aber stets ein Teil des Esters in Oktalin übergeht, liegt der Schmelzpunkt bei 96°, sinkt nach einigen Tagen auf 84°, und nach noch längerer Zeit tritt Zersetzung der Substanz unter Gelbfärbung ein; es bildet sich dabei ein Oktalin vom Siedep$_{22}$ 79 bis 82°. Wird jede Spur Säure durch Waschen mit Natriumbicarbonatlösung entfernt, so ist der Ester viel haltbarer,

[1]) Qvist, A. 417, 295 (1918).
[2]) Kenyon u. Priston, Soc. 127, 1472 (1925).
[3]) A. a. O.

Digitized by Google

färbt sich aber nach einem halben Jahre trotz Aufbewahrens in einem braunen Exsiccator leicht braun.

Thermische Zersetzung des Esters durch Kochen in methylalkoholischer Lösung.

38 g roher Ester wurden in Methylalkohol gelöst und 2 Stunden auf dem Wasserbade gekocht, dann mit Natriumcarbonatlösung versetzt und ausgeäthert. Es waren 12 g Oktalin vom Siedep.$_{15}$ 76—80° entstanden (nach 2maliger Destillation, zuletzt über Natrium); Schmelzpunkt unscharf −60° bis −40°; es lag also ein Gemisch vor. Das zeigte sich auch bei der Umsetzung mit Nitrosylchlorid:

1 g Oktalin und 2 g Äthylnitrit wurden bei −70° zusammengegeben und mit 1,5 ccm konz. Salzsäure versetzt. Nach einiger Zeit schied sich blaues, krystallisiertes Nitrosochlorid aus, das nach dem Waschen mit Alkohol bei 91° schmolz und mit dem Nitrosochlorid des $\Delta_{9,10}$-Oktalins identisch war. Aus den Mutterlaugen kam neben blauem noch weißes Nitrosochlorid heraus, das nach dem Umkrystallisieren aus Aceton bei 125—127° unter Zersetzung schmolz. Seine Menge war ungefähr halb so groß wie die des blauen. Welchem Kohlenwasserstoff das weiße Nitrosochlorid zugehört, ist noch unbekannt; man findet es auch in geringer Menge in dem aus β-Dekalolgemisch mittels Zinkchlorid hergestellten Oktalin.[1]) Daß es sich vom cis-Δ_1-Oktalin ableitet, ist deswegen unwahrscheinlich, weil es (nach Versuchen von A. Groß)[2]) auch aus einem *trans*-Dekalylamin mittels salpetriger Säure dargestellten Oktalin erhalten werden kann. Die Oxydation des Oktalins gibt keine sicheren Anhaltspunkte über die Konstitution des zweiten Kohlenwasserstoffs:

5 g Oktalin, 17,1 g Kaliumpermanganat und etwas Kaliumhydroxyd in 360 ccm Wasser wurden unter Zusatz von Eisstücken bis zur Entfärbung geschüttelt. Das Reaktionsprodukt wurde in der üblichen Weise aufgearbeitet und das durch Extraktion der alkalischen Lösung wiedergewonnene Oktalin nochmals oxydiert, was viel rascher vonstatten ging als das erste Mal. Diesmal fand sich im Ätherauszug der alkalischen Lösung kein Oktalin mehr vor; es war vielmehr ein krystallisierter Stoff entstanden, der nach dem Umkrystallisieren aus Petroläther bei 68—69°

[1]) A. 474, 139 (1929). [2]) Dissertation Freiburg i. Br. 1929.

Digitized by Google

schmolz. Die Analyse zeigt, daß ein Glykol $C_{10}H_{18}O_2$ vorliegt[1]):

5,188 mg Subst.: 13,850 mg CO_2, 5,02 mg H_2O.

$C_{10}H_{18}O_2$	Ber. C 70,53	H 10,66
	Gef. „ 70,18	„ 10,83.

Die nach dem Ansäuern der Oxydationsflüssigkeit gewonnenen Säuren waren ein Gemisch von Bernsteinsäure und öligen Säuren. Letztere lieferten bei der Destillation mit Essigsäureanhydrid ein Keton, das wie α-Hydrindanon roch, dessen Semicarbazon aber bei 189° (statt 210°) schmolz und mit α-Hydrindanonsemicarbazon eine Depression (175—185°) gab.

Vergleich der Beständigkeit der p-Toluolsulfosäureester der verschiedenen Dekalole.

Je 0,3 g Ester wurden mit je 3,5 ccm Methylalkohol 2 Stunden lang gekocht. Vollständig war der Ester des cis-α-Dekalols 93°, nahezu der Ester des trans-α-Dekalols 49° zersetzt; der Ester des cis-β-Dekalols 105° war beinahe unverändert und roch nur sehr schwach nach Oktalin. Die Ester des trans-α-Dekalols 63°, des trans-β-Dekalols 75° und des trans-β-Dekalols 53° waren vollständig unangegriffen geblieben; die beiden Ester der trans-β-Reihe wurden noch 8 Tage lang gekocht, erwiesen sich aber auch bei dieser Behandlung als durchaus beständig.

Phosphorsäureester.

Neutraler Phosphorsäureester des l-Fenchylalkohols.[2]) 7,7 g Fenchylalkohol wurden in 10 ccm trockenem Toluol zum Sieden erhitzt; dann wurden 2 g Kalium in kleinen Stücken zugegeben. Nach 2 Stunden langem Kochen hatte sich das Kalium gelöst. In die Lösung des Alkoholats wurden unter Eiskühlung 2,6 g Phosphoroxychlorid, die in wenig Toluol gelöst waren, eingetropft; nach einiger Zeit wurde das

[1]) Anscheinend dasselbe Glykol entsteht bei der Oxydation des aus trans-Dekalylamin gewonnenen Kohlenwasserstoffs (A. Groß, Diss.).

[2]) Vgl. Milobedzki u. Kolitowska, Roczniki Chemji 6, 67 (1926); C. 1926, II, 2898.

Digitized by Google

Toluol im Vakuum verdampft, durch den Rückstand Wasserdampf geleitet und der dann zurückbleibende, zunächst ölige Ester mit Wasser ausgelaugt. Nach dem Festwerden wurde aus Methylalkohol oder Aceton umkrystallisiert. Schmelzp. 160°.

0,1262 g Subst.: 0,0334 g $Mg_2P_2O_7$.

$C_{30}H_{51}O_4P$ Ber. P 6,13 Gef. P 7,34.

25 stündiges Kochen mit 50-proc. Kalilauge ist ohne jeden Einfluß auf den Ester, ebenso 30 stündige Einwirkung starker alkoholischer Kalilauge bei 160—170°.

Neutraler Phosphorsäureester des trans-β-Dekalols 75°. 9 g Dekalol und 3 g $POCl_3$ wurden zuerst 12 Stunden unter gewöhnlichem Druck, dann noch weiter im Vakuum 6 Stunden zur Entfernung der Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt. Der hinterbleibende Rückstand wurde in wenig heißem Aceton gelöst, aus dem der Ester vom Schmelzpunkt 159° auskrystallisierte. In der Mutterlauge blieb Dekalylchlorid. Die Phosphorbestimmung ergab keine brauchbaren Werte. Der Ester ist ebenso widerstandsfähig wie der des Fenchylalkohols.

Phosphorigsäureester.

Phosphortrichlorid gibt mit Alkoholen ein Gemisch von Phosphorigsäureester und Chlorid; die Mengenverhältnisse sind abhängig von der Natur des Alkohols. Um die Chloridbildung zu vermeiden, wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Milobedzki u. Kolitowska folgendermaßen verfahren:

Zu einer Auflösung von 10 g $C_{10}H_{17}OH$ in 30 ccm absolutem Äther und 5,3 ccm wasserfreiem Pyridin wurden 3,1 g PCl_3, in wenig absolutem Äther gelöst, langsam zugegeben. Nach 2 Tagen wurde das ausgeschiedene salzsaure Pyridin abfiltriert und mit Äther gut ausgewaschen. Nach dem Eindunsten des Filtrats hinterblieb eine ölige Masse, die nicht zum Krystallisieren zu bringen war. Da der Stoff weder mit Wasserdämpfen flüchtig war, noch sich in Natronlauge löste, konnte aber nur der neutrale Phosphorigsäureester vorliegen. trans-β-Dekalol 75°, cis-β-Dekalol 105° und l-Menthol verhielten sich vollkommen gleich. Beim Verseifen der Ester mit Lauge wurden in allen Fällen die Ausgangsmaterialien geruchsrein zurückgebildet.

Oxalsäureester.

Da sich die Oxalsäureester bei der Reinigung der β-Dekalole schon früher[1]) bewährt hatten, war nicht anzunehmen,

[1]) A. 451, 126 (1926).

Digitized by Google

daß bei ihrer Bildung und Verseifung eine Waldensche Umkehrung eintritt. Trotzdem wurde auch aus Oxalylchlorid und Fenchylalkohol der Ester dargestellt, der mit dem aus Oxalsäure und Fenchylalkohol erhaltenen identisch ist, Schmelzp. 93—94°. Hat man nur geringe Mengen eines Alkohols, so empfiehlt sich die Darstellung mit Oxalylchlorid statt der mit wasserfreier Oxalsäure: Zu 1 g Oxalylchlorid werden unter Eiskühlung allmählich 2,5 g $C_{10}H_{17}OH$, entweder in festem Zustande oder in Äther gelöst, gegeben; das Reaktionsprodukt wird in Wasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet.

Oxalsäureester der α-Dekalole	Schmelzpunkt	Substanz	CO_2	H_2O	C (ber. 72,87)	H (ber. 9,46)
cis-α-Dekalol 93 . .	100°	0,2435 g	0,6505 g	0,2084 g	72,86	9,58
trans-α-Dekalol 63	111	5,221 mg	13,890 mg	4,49 mg	72,56	9,62
trans-α-Dekalol 49	142	5,348 mg	14,250 mg	4,48 mg	72,67	9,37

Aus allen Estern gingen bei der Verseifung sterisch einheitliche, vollkommen geruchsreine Alkohole hervor.

Borsäureester.

Ester des l-Fenchylalkohols. 4,6 g Fenchylalkohol wurden mit 0,75 g krystallisierter Borsäure 7 Stunden auf 125° erhitzt. Das erstarrte Reaktionsprodukt wurde gepulvert und in möglichst wenig Äther aufgenommen; aus der filtrierten, mit Methylalkohol versetzten Lösung fiel der Ester in feinen, glitzernden Krystallen aus. Schmelzp. 147°, Ausbeute 60 Proc.

0,6251 g Subst.: 0,0403 g B_2O_3.

$C_{30}H_{51}O_3B$ Ber. B 2,32 Gef. B 2,02.

Ester des trans-α-Dekalol 63°, ebenso bereitet, schmilzt bei 155°; Ausbeute nur 20 Proc. Die Ester werden in alkalischer Lösung nur sehr langsam hydrolysiert. Die wiedergewonnenen Alkohole sind frei von Isomeren und vollkommen geruchsrein.

cis-α-Dekalol 93°, trans-β-Dekalol 75°, cis-β-Dekalol 105°, Cyclohexanol reagieren nicht mit $B(OH)_3$.

Digitized by Google

Orthokieselsäureester.

10 g $C_{10}H_{17}OH$ und 3,1 g Siliciumtetrachlorid wurden unter Abschluß der Luftfeuchtigkeit bis zur Beendigung der Gasentwicklung (etwa 4 Stunden) auf dem Wasserbade erwärmt; der in dem gebildeten Ester haftende Chlorwasserstoff wurde durch mehrstündiges Erwärmen im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in heißem Aceton gelöst und kam beim Erkalten krystallin heraus. Zum Umkrystallisieren ist Essigester geeignet.

Ester des	Schmelzpunkt (°)	Subst. g	SiO_2 g	Si gef.	Si ber.
cis-α-Dekalols 93	116—118	0,4658	0,0472	4,75	4,42
trans-α-Dekalols 63	105	0,5700	0,0547	4,50	4,42
cis-β-Dekalols 105	97—98	0,5252	0,0518	4,63	4,42
trans-α-Dekalols 75	124—125	0,5126	0,0488	4,47	4,42
l-Menthols (zweimal dargestellt)	102—103	0,6126	0,0582	4,46	4,36

Der Schmelzpunkt des Mentholesters, sowie sein Siedepunkt (bei gewöhnlichem Druck unter teilweiser Zersetzung etwa 320°) stimmt nicht mit den Literaturangaben von Hertkorn (82°, bzw. 350° bei 165 mm)[1]) überein. Da aber Hertkorn die Darstellung unter unvorteilhaften Bedingungen — anfangs wurde mit unnötiger Vorsicht gekühlt, später überflüssigerweise auf 180° erhitzt — vorgenommen, sowie anscheinend die Luftfeuchtigkeit nicht peinlich ausgeschlossen hat, so ist anzunehmen, daß er nicht den normalen Ester erhalten hat. Auch die von ihm erwähnte oberflächliche Empfindlichkeit gegen Wasser wurde nicht beobachtet; beim Kochen mit Wasser trat nur ganz schwacher Mentholgeruch auf.

Bei der Darstellung des Esters vom cis-β-Dekalol 105 wurde als Nebenprodukt ein wenig Dekalylchlorid beobachtet, während in allen anderen Fällen das Siliciumtetrachlorid nicht chlorierend wirkte.

Alle Ester waren gegen Lauge außerordentlich beständig: Nach 6 Stunden langem Kochen mit 50-proc. KOH war keine nennenswerte Verseifung zu bemerken. Dagegen wurden sie in saurer Lösung rasch verseift; die Verseifungsprodukte waren vollkommen einheitlich.

[1]) B. 18, 1695 (1885).

Digitized by Google

Anhang: Darstellung des trans-α-Dekalols. Schmelzp. 49°.

Von den trans-α-Dekalolen ist bisher nur eines vom Schmelzp. 63° in reinem Zustande beschrieben worden; die Gegenwart eines zweiten ist im Hydrierungsprodukt, das nach dem Willstätterschen Verfahren aus trans-α-Dekalon in Eisessig entsteht, nachgewiesen worden durch die Bildung eines eigenen Phenylurethans.[1]) Einheitlicher als die Hydrierung nach Willstätter, bei der auch erhebliche Mengen des trans-α-Dekalols 63° entstehen, verläuft die Hydrierung nach Skita in saurer Lösung:

60 g trans-α-Dekalon (Schmelzp. 33°) in 200 ccm Eisessig gelöst, nahmen mit 1 g Platin als Kolloid (125 ccm Flüssigkeit), 1 g Platin als H_2PtCl_6 und 40 ccm konz. HCl bei 50° und 2—3 Atm. Überdruck in 1½ Stunden 9,4 Liter Wasserstoff auf (ber. 8,7 Liter).

Das in der üblichen Weise isolierte Reaktionsprodukt schmilzt etwa bei 20° und enthält anscheinend noch etwas Dekalon. Zur Reinigung wird das Dekalol zunächst in den sauren Phtalsäureester übergeführt (Erhitzen mit der gleichen Menge Phtalsäureanhydrid auf 135—140° während sechs Stunden). Dieser ist anfangs klebrig wie der Ester des trans-β-Dekalols 53°, kommt aber aus hochsiedendem Petroläther (Siedepunkt etwa 75°) krystallin heraus. Gleichzeitig ausfallendes, nicht umgesetztes Anhydrid wird mit Wasser in Phtalsäure übergeführt; von der Säure wird der Ester durch Lösen in wenig Benzol getrennt, aus der benzolischen Lösung mit Petroläther (Siedep. 40°) ausgefällt und einige Male aus hochsiedendem Petroläther umkrystallisiert, Schmelzp. 117—119°. Obwohl das andere trans-α-Dekalol vom Schmelzp. 63° nicht nachgewiesen werden konnte, muß dessen Phtalester in Spuren noch anhaften, denn die Verseifung des Esters (Kochen mit 50-proc. Kalilauge während 4 Stunden) lieferte ein nicht ganz scharf bei 44—46° schmelzendes Dekalol. Erst die Reinigung über den Oxalsäureester (Schmelzp. 142°) ergab den ganz reinen Stoff vom Schmelzp. 49°. Das neue trans-α-Dekalol ist wie das trans-

[1]) A. 441, 33 (1925).

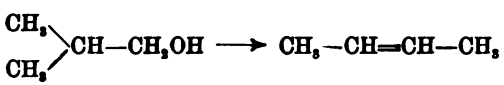
Digitized by Google

β-Dekalol 53° leicht sublimierbar, riecht intensiv und etwas muffig, sein Siedepunkt liegt mit 232,5° bei 745 mm (korr., Thermometer ganz im Dampf) um 4° niedriger als der des trans-α-Dekalols 63° (236,5° unter genau gleichen Bedingungen). Es kann auch aus den nach der Methode von Skita entstehenden Hydrierungsprodukten des ar-α-Tetralols in geringer Menge herausgearbeitet werden.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

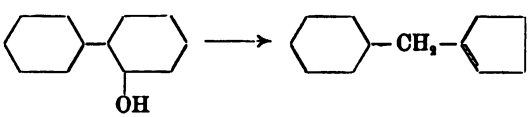
Faßt man zusammen, was für Schlüsse die vorstehenden Untersuchungen zulassen, so fällt zunächst auf, daß sie eine Antwort auf die Frage, in welcher Richtung und in welchem Umfange ein Alkohol mit vorgegebener Struktur bei der Wasserabspaltung Umlagerung erleidet, nicht zu geben vermögen. Von den Isomerisationen des Isobutylalkohols, Cyclohexyl-cyclohexanols und Cyclopentyl-cyclopentanols verläuft nämlich keine der andern analog:

Bei der Reaktion



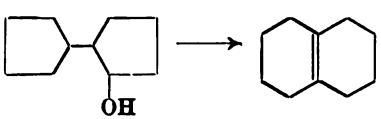
wird aus einer verzweigten Kette eine normale (bei cyclischen Verbindungen würde das einer *Ringerweiterung* entsprechen).

Bei der Reaktion



wird aus der normalen Kette des Sechsrings eine verzweigte (*Ringverengerung*).

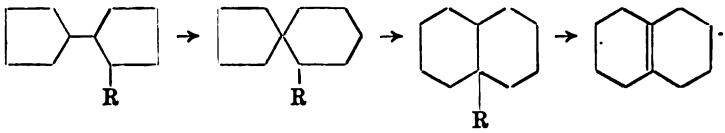
Die Reaktion



könnte als Aufeinanderfolge von zwei Umlagerungen aufgefaßt werden: Erst Ringerweiterung, entsprechend der beim Isobutylalkohol beobachteten Umlagerung, und dann eine

Digitized by Google

normale Pinakolinumlagerung des entstehenden Pinakolinalkohols, bzw. dessen Ester:



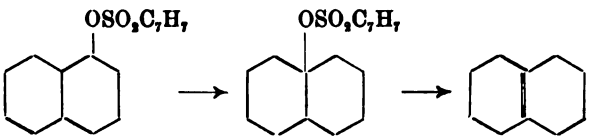
Diese Möglichkeit deutet auch Zelinsky[1]) an. Um hinter den Verlauf der Reaktionen im einzelnen zu kommen, wären Versuche über die Isomerisationen der Ester starker Mineralsäuren, entsprechend den Meerweinschen Versuchen mit den Estern der Pinakolinalkohole, erforderlich; sie sind zunächst beim Isobutylalkohol als Ergänzung zu früheren Versuchen anderer Forscher in Angriff genommen.

Eine Isomerisation der Ester kann auch bei zu normalen Produkten führenden Reaktionen mitspielen. Denn wenn dabei Ester mit dem Kohlenstoffgerüst des Ausgangsesters entstehen, kann man dem Produkt der thermischen Zersetzung nicht immer ansehen, aus welchem Ester es entstanden ist. Um das einfachste Beispiel zu nehmen, kann das aus dem Isobutylalkohol bei der Wasserabspaltung entstehende Isobutylen entweder unmittelbar aus einem Ester des primären Alkohols stammen, oder aus dessen Isomerisationsprodukt, dem Ester des tertiären Butylalkohols; eine entsprechende Isomerisation ist beim Bromwasserstoffsäureester ja bekannt. Eine andere Isomerisation, die unter Erhaltung des Kohlenstoffgerüsts vor sich geht, ist die von Meerwein[2]) gefundene Wanderung des Chloratoms beim Isobornylchlorid, die zur Racemisierung führt, und die gleiche Wanderung bei der Umlagerung α-Campherdichlorid $\longrightarrow$ β-Campherdichlorid. Ferner sprechen die mehrfach beobachteten Wanderungen einer Doppelbindung bei thermischen Zersetzungen gewisser Ester für eine Isomerisation vor dem eigentlichen Zerfall des Moleküls, zumal, wenn die Zersetzungen unter Bedingungen verlaufen, unter denen eine Wiederanlagerung der abgespaltenen Säure an die Doppelbindung äußerst unwahrscheinlich erscheint. So ist

[1]) B. 59, 2580 (1926). [2]) A. 435, 207 (1924).

Digitized by Google

es z. B. nicht anzunehmen, daß bei der Zersetzung des Toluolsulfosäureesters des cis-α-Dekalols 93° durch kurzes Kochen in methylalkoholischer Lösung, die unter anderen $\Delta_{9,10}$-Oktalin liefert, sich die abgespaltene Toluolsulfosäure in verdünnter methylalkoholischer Lösung an primär entstandenes $\Delta_{1,9}$-Oktalin unter Bildung des Esters eines 9-Dekalols anlagert, und sich dieser Ester von neuem zersetzt; es ist vielmehr wahrscheinlicher, daß sich ein Teil des cis-α-Dekalolesters unmittelbar zum Ester eines 9-Dekalols isomerisiert, der dann zerfällt:



Um auf diese hier nur angedeuteten Fragen Antwort geben zu können, müßte man über die Geschwindigkeit aller in Frage kommenden Konkurrenzreaktionen Bescheid wissen und ihre Abhängigkeit von der Konstitution kennen: Die Zersetzungsgeschwindigkeit jedes einzelnen Esters, die Isomerisationsgeschwindigkeit zu Estern mit gleichen und zu Estern mit anderem Kohlenstoffgerüst. Da dies noch nicht der Fall ist, muß man versuchen, mit Hilfe des vorliegenden Beobachtungsmaterials wenigstens ein oder das andere Teilproblem der Lösung näher zu führen.

Ein solches Teilproblem ist der Zusammenhang zwischen thermischer Beständigkeit der Ester und ihrer Konstitution, wobei zunächst unberücksichtigt bleibt, wie im einzelnen die thermische Zersetzung verläuft. Von einem solchen Zusammenhang läßt das bisher vorliegende, noch nicht sehr umfangreiche Material bereits einen wesentlichen Zug erkennen, nämlich den Einfluß der Nachbarstellung von Substituenten zur Estergruppe.

Die Toluolsulfosäureester der sekundären Alkohole mit zwei benachbarten Methylengruppen, der β-Dekalole, sind selbst bei längerem Kochen in methylalkoholischer Lösung beständig. Freilich bestehen bei der Wasserabspaltung aus den β-Dekalolen mit verschiedenen wasserabspaltenden

Digitized by Google

Mitteln Geschwindigkeitsunterschiede, in dem das trans-β-Dekalol Schmelzp. 75° am schwersten Wasser abspaltet[1]); sie sind aber lange nicht so auffallend wie die Unterschiede bei den α-Dekalolen und anderen, in Nachbarstellung zum Hydroxyl substituierten Isomeren. Von den beiden cis-trans-Isomeren besitzt hier immer eines — als Toluolsulfosäureester oder bei der Behandlung mit wasserabspaltenden Mitteln — eine Stabilität, die der den Verbindungen der β-Dekalol-Reihe gleichkommt, wenn sie nicht gar übertrifft; das andere dagegen ist sehr unbeständig und geht sehr leicht in Kohlenwasserstoff über. Der stabile Alkohol entsteht jeweils durch alkalische Reduktion, der instabile durch katalytische Hydrierung; nach der von Skita[2]) vorgenommenen Zuordnung zur cis- und trans-Reihe, über die nachher noch zu reden sein wird, stehen bei den stabilen Alkoholen Hydroxyl und Substituent in trans-, bei den instabilen in cis-Stellung. Die Paare von isomeren Alkoholen, an denen die auffallenden Unterschiede zwischen den durch alkalische und den durch katalytische Reduktion entstehenden cis-trans-Isomeren beobachtet worden sind, seien hier noch einmal zusammengestellt (die Beziehung cis-trans ist nur zur Festlegung des Dekalinringsystems verwendet):

Aus dem Keton durch alkalische Reduktion; spaltet schwer Wasser ab, Toluolsulfosäureester stabil	Aus dem Keton durch katalyt. Reduktion; spaltet leicht Wasser ab, Toluolsulfosäureester zersetzlich
trans-α-Dekalol 63°	trans-α-Dekalol 49°
	cis-α-Dekalol 93°
Cyclohexyl-cyclohexanol 52°	Cyclohexyl-cyclohexanol 63°
Cyclopentyl-cylopentanol fl.	Cyclopentyl-cyclopentanol 28°
Menthol	Neomenthol
Borneol	Isoborneol

[1]) A. 474, 132 (1929). Bei der Behandlung mit Kaliumbisulfat spaltet übrigens das cis-β-Dekalol 105° leichter Wasser ab als das cis-α-Dekalol 93°, obwohl der Toluolsulfosäureester des cis-β-Dekalols ganz beständig ist; vielleicht ist der Grund in der verschiedenen Veresterungsgeschwindigkeit der beiden Alkohole zu suchen. Das cis β-Dekalol 105° verestert sich z. B. auffallend rasch mit Chlorwasserstoffsäure, schon beim kurzen Kochen mit konz. Chlorwasserstoffsäure sind nachweisbare Mengen verestert. Vgl. sein Verhalten gegenüber $SiCl_4$, wobei es als einziges Dekalol zum geringen Teil Dekalylchlorid gibt.

[2]) Skita, B. 52, 1524 (1919); 53, 1792 (1920) — v. Auwers, A. 420, 91 (1919) u. a. m.

Digitized by Google

Es sind hier zweifellos wichtige Beziehungen zwischen dem räumlichen Bau der Moleküle und der Reaktionsgeschwindigkeit zu erkennen, und es fragt sich, ob und wie sie zu deuten sind. Dazu braucht man eine sichere Zuordnung der Isomeren zur cis- und trans-Reihe. Diese ist heute aber noch nicht möglich, und nur Wahrscheinlichkeitsargumente sprechen für die oben erwähnte, von Skita vorgenommene Zuordnung, die auch der Bezeichnung in den vorhergehenden Arbeiten zugrunde gelegt ist. In einem Punkte wird das von Skita gewählte Prinzip der Konfigurationsbestimmung sicher richtig sein. Den unter gleichen Versuchsbedingungen entstehenden Isomeren, die sich, wie die obige Zusammenstellung zeigt, auch bei andern Reaktionen gleichartig verhalten, kommt die gleiche Konfiguration zu.

An dieser Stelle würde es zu weit führen, im einzelnen die Gründe zu erörtern, die für die Skitasche Konfigurationsbezeichnung sprechen, und sie kritisch abzuwägen; das soll vielmehr später einmal an anderer Stelle geschehen. Hier sollen sie nur kurz erwähnt werden. Skita selbst trifft seine Wahl, indem er das Prinzip, nach dem unter gleichen Versuchsbedingungen Isomere gleicher Konfiguration entstehen, nicht allein auf gleichartige Isomere verwendet, sondern es auch auf weniger nahe verwandte Isomere überträgt. Katalytische Hydrierung in saurer Lösung soll zwei in Nachbarstellung befindliche Substituenten[1]) stets vorwiegend in dieselbe räumliche Stellung zueinander lenken, gleichgültig, ob es sich um die katalytische Hydrierung eines Ketons, Oxims oder eines o-substituierten Benzolderivates handelt, ob die benachbarten Substituenten Hydroxyl und Alkyl, Aminogruppe und Alkyl, zwei Alkyle, zwei Carboxyle usw. sind. (Tatsächlich liefert z. B. die katalytische Hydrierung eines o-substituierten Phenols denselben Alkohol wie die Hydrierung des entsprechenden hydroaromatischen Ketons.) Sind nun die beiden Substituenten gleich, so ist bei im übrigen symmetrischen Bau des Moleküls eine absolute Konfigurationsbestimmung auf Grund der Spaltbarkeit oder Nichtspaltbarkeit in optische Antipoden zu führen. Soweit nun die Konfiguration der bei katalytischer Hydrierung in überwiegender Menge entstehender Isomeren sicher feststehen, sind es stets cis-Konfigurationen.

[1]) Skita dehnt seine Methode der Konfigurationsbestimmung auch auf 1,3- und 1,4-Derivate des Cyclohexans aus, doch sind hier seine Schlüsse durch nicht so viel einwandfreies Versuchsmaterial gestützt wie bei den 1,2-Derivaten.

Digitized by Google

Zu der gleichen Konfigurationsbezeichnung wie Skita kommt Vavon[1]), der für die Verseifung der Carbonsäureester der cis-Alkohole eine sterische Hinderung annimmt, die bei den trans-Alkoholen nicht vorhanden sein soll. Tatsächlich findet er in zahlreichen Fällen recht erhebliche Unterschiede in den Verseifungsgeschwindigkeiten cis-trans-isomerer Ester. Doch liegen die Verhältnisse nicht ganz so einfach und eindeutig, wie Vavon annimmt[2]), so daß bei aller Wahrscheinlichkeit, die die Grundannahme Vavons hat, die Beweiskraft seiner Argumente nicht ganz so groß ist, wie es zunächst scheint.

Die Heranziehung physikalischer Eigenschaften zur Konfigurationsbestimmung stereoisomerer Alkohole begegnet großen Schwierigkeiten; das hat schon v. Auwers[3]) betont. Es lassen sich dafür auch einleuchtende physikalische Gründe angeben, auf deren Auseinandersetzung aber hier verzichtet sei. Die optischen Daten sind gewöhnlich fast gleich (vgl. z. B. das cis- und trans-o-Cyclopentyl-cyclopentanol). Manchmal sind dagegen erhebliche Unterschiede in der *Viscosität* vorhanden, und man[4]) hat, einer physikalisch noch nicht genügend durchdachten Hypothese von Thole[5]) folgend, dem Alkohol mit der höheren Viscosität die trans-Konfiguration zugeschrieben. In den wenigen bisher untersuchten Fällen stimmt das mit der Skitaschen Zuordnung überein, aber die Viscositätsunterschiede sind einmal sehr groß, wie beim cis- und trans-o-Methylcyclohexanol, ein andermal aber auch wieder bedenklich klein, wie beim cis- und trans-o-Cyclopentylcyclopentanol. So wird man, bei der Unsicherheit in den Grundlagen der Tholeschen Hypothese, wie dem spärlichen Material, vorläufig keine Konfigurationsbestimmung auf die Viscosität allein zu gründen wagen.

Im großen und ganzen sprechen die chemischen, reaktionskinetischen Argumente wie die physikalischen *für* die Skitaschen Konfigurationen. Danach kommen also in den instabilen Estern Alkyl und Estergruppe in cis-Stellung zu stehen. In einem solchen Molekül werden sich die elektrischen Kraftfelder der räumlich benachbarten Gruppen stören, wie es bei den o-substituierten Benzolderivaten, in

---

[1]) C. r. **179**, 405 (1924). Rev. gén. des sciences pures et appl. **35**, 505, C. **1924** II, 2328. Bl. [4] **39**, 666 (1926).

[2]) Vgl. B. **61**, 1517 (1928). H. Havekoß, Diss. Freiburg i. Br. 1929.

[3]) v. Auwers, Über die Bestimmung der Konfiguration raumisomerer hydroaromatischer Verbindungen, Sitzungsber. d. Ges. z. Beförderung der ges. Naturw. Marburg, Bd. 62, Heft 4, S. 113 (1927).

[4]) Gough, Hunter u. Kenyon, Am. Soc. **1926**, 2052; Cauquil, C. r. **184**, 1248 (1928).

[5]) Soc. **101**, 552 (1912).

Digitized by Google

denen die Stellung der Substituenten eine Art cis-Stellung ist, auf Grund von Messungen der Dipolmomente feststeht: Die Elektronenhüllen der Substituenten drängen sich gegenseitig voneinander ab.[1])

Steht nun eine zur Bildung eines Anions neigende Estergruppe einer starken Säure unter der Einwirkung eines von einer wenig polarisierbaren Alkylgruppe herrührenden Kraftfeldes, so werden in ihr voraussichtlich ganz analog die Elektronen vom Alkyl abgedrängt werden. Sie wird daher leichter ionisierbar und leichter zu Abspaltungsreaktionen geneigt sein — sei es bei Zusammenstößen mit anderen Molekülen oder infolge innermolekularer Atombewegungen —, als eine undeformierte Estergruppe, wie sie in den trans-Estern oder in den Estern mit zwei benachbarten CH_2-Gruppen vorliegt.

Diese Deutung läßt sich auf alle Stereoisomerenpaare anwenden, bei denen ein Substitutient am Nachbarkohlenstoff steht.

Nun findet sich aber derselbe charakteristische Unterschied in der Beständigkeit der Ester auch bei den Pinakolinalkoholen Borneol und Isoborneol, bei denen zwei Substituenten, die Brücke und die Methylgruppe, benachbart stehen. Der besondere räumliche Bau des starren Kohlenstoffskeletts des Camphans bringt es jedoch mit sich, daß trotzdem die räumliche Stellung der Hydroxylgruppe in den beiden möglichen diastereomeren Alkoholen charakteristisch verschieden ist. Bei dem einen Isomeren steht sie, dem Einfluß der Brücke völlig und dem des Methyls einigermaßen entrückt, nach der freien Seite des halbkugelförmigen Moleküls heraus, in „endo-Stellung" nach der von Bredt[2]) geschaffenen Nomenklatur, im Innern einer dem Kohlenstoffskelett umschriebenen Kugel. Bei dem andern Isomeren ragt die Hydroxylgruppe seitlich und etwas nach oben aus dieser Kugel heraus; sie steht in „exo-Stellung" und ist dem Einfluß des von der Brücke herrührenden Kraftfeldes unterworfen. Welche von den beiden Raumformeln dem Borneol und welche dem Isoborneol zukommt, ist unbekannt; die von Bredt[3]) stammende Zuordnung: Borneol = Exoborneol, Iso-borneol = Endoborneol gründet sich auf die unbewiesene und durch nichts zu begründende Annahme der cis-Addition von Chlor und der wandernden Brücke an die Doppelbindung des Pinens bei der Bildung

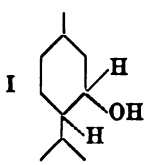
[1]) Debye, Polare Molekeln, S. 62 (Hirzel, Leipzig 1929).
[2]) Wüllner-Festschrift, S. 120, (1905).
[3]) a. a. O. S. 122.

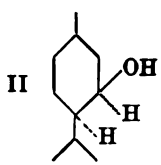
Digitized by Google

von Bornylchlorid. Nach den oben angestellten Überlegungen wird man geneigt sein, die von Bredt angenommenen Formeln zu vertauschen; zu dem gleichen Schluß gelangt auch Vavon[1]) auf Grund der geringeren Verseifungsgeschwindigkeit der Ester des Isoborneols. Doch kann es immerhin noch fraglich erscheinen, ob die Verhältnisse beim Borneol und Isoborneol ebenso liegen wie bei den andern, oben zusammengestellten Paaren von stereoisomeren Alkoholen.

Die hier geübte Art der Erklärung der verschiedenen Stabilität stereoisomerer Ester zieht die Zustände in Betracht, die auf Grund der gebräuchlichen Modelle im fertigen Molekül herrschen. Sie unterscheidet sich dadurch von früher üblichen Betrachtungsweisen, die den Bau des Reaktionsproduktes mit dem räumlichen Bau des Ausgangsstoffes in Verbindung zu bringen versuchten. Da derartige Überlegungen gerade wegen des Verlaufs der Wasserabspaltung aus stereoisomeren Verbindungen angestellt worden sind, und zu Schlüssen hinsichtlich der Konfiguration führen, die den hier gezogenen entgegengesetzt sind, so muß auf sie noch eingegangen werden. Bei ihnen sucht man nicht die Reaktionsgeschwindigkeit mit dem anderweitig, von der Geschwindigkeit der betrachteten Reaktion vollkommen unabhängigen, Methoden mehr oder weniger sicher festgelegten räumlichen Bau der Moleküle in Beziehung zu setzen; man will vielmehr umgekehrt die Reaktionsgeschwindigkeit zur Konfigurationsbestimmung benutzen.

Das dabei benutzte Prinzip ist die Lehre von der innermolekularen Reaktion räumlich benachbarter Gruppen. Danach käme den leicht Wasser abspaltenden Alkoholen diejenige Konfiguration zu, bei der Hydroxyl und Wasserstoff in cis-Stellung stehen; es hätte also z. B. das Neomenthol die trans-Konfiguration in bezug auf Hydroxyl und Isopropyl (I), das stabile Menthol wäre die cis-Form (II).





[1]) Bl. [4] 39, 925 (1926).

Digitized by Google

Diese Schlußweise ist zuerst von Wallach[1]) bei der Erörterung der Konfiguration der Menthylamine angewendet worden, von denen eines bei der Umsetzung mit salpetriger Säure überwiegend Menthen gibt und deshalb Formel I entsprechen sollte, während das andere quantitativ Menthol gibt. Sie ist dann später von andern Forschern wie Semmler[2]), Read und Robertson[3]) als selbstverständlich übernommen worden, während Zeitschel und Schmidt[4]) sich ihr nur unter gewissen Vorbehalten anschließen. *Das dieser Schlußweise zugrunde liegende Prinzip der innermolekularen Reaktion benachbarter Gruppen darf aber hier nicht angewendet werden*: Bei der Reaktion werden nämlich die beiden asymmetrischen Kohlenstoffatome, welche die cis-trans-Isomerie bedingen, in Mitleidenschaft gezogen, und in solchen Fällen darf man nichts über den sterischen Verlauf der Reaktion vorhersagen (außer wenn nicht sehr viel einwandfreie Erfahrungstatsachen bekannt sind, z. B. bei der Bildung von cis-Diolen bei der Oxydation ungesättigter Verbindungen mit Permanganat). Man muß bei einer Abspaltungsreaktion, die zu einer Doppelbindung führt, von vornherein ebenso mit cis- *und* trans-Abspaltung rechnen, wie man bei den Additionsvorgängen cis- *und* trans-Anlagerung an die Doppelbindung als gleich gut möglich ansehen muß.

Aus diesem Grunde entbehren auch die Raumformeln Freudenbergs[5]) für Catechin und Epicatechin einer sicheren Grundlage; Freudenberg teilt nämlich dem Epicatechin, dessen Toluolsulfosäureester mit Hydrazin Toluolsulfosäure abspaltet, die Formel zu, in der Hydroxyl und Wasserstoff auf derselben Seite der Ringebene stehen.

---

[1]) A. **300**, 278 (1898). Die Bildung von ungesättigtem Kohlenwasserstoff aus Aminen bei der Umsetzung mit salpetriger Säure geht im übrigen nicht immer parallel mit der Leichtigkeit der Wasserabspaltung aus konfigurationsgleichen Alkoholen, vgl. Kamenz, Diss. Göttingen 1926 und Groß, Diss. Freiburg i. Br. 1929.

[2]) B. **34**, 708 (1901). [3]) Soc. **1926**, 2209.

[4]) B. **59**, 2298 (1926).

[5]) A. **441**, 157; **442**, 309 (1925).

Digitized by Google

Zum Schluß ist noch hervorzuheben, daß man auf Grund der vorstehenden Untersuchungen nicht etwa *mit Sicherheit* behaupten darf, daß die Wasserabspaltung, entgegen der bisher herrschenden Vorstellung statt aus *cis*, nunmehr aus *trans*-Stellung stattfindet. Denn wie schon einmal ausgeführt, weiß man noch nicht, ob der Ester, welcher der thermischen Zersetzung unterliegt, der Ausgangsester selbst ist oder nicht. Das von Meerwein geklärte Beispiel vom Borneol und Isoborneol, deren Ester mit starken Säuren gar nicht als solche thermisch zerfallen, sondern sich in Ester des Camphenhydrats umwandeln, mahnt zur Vorsicht. Es erscheint weiterhin sehr wohl möglich, daß, wie bei diesem Beispiel, auch sonst bei den unter Umlagerung erfolgenden Reaktionen das Prinzip der möglichst geringen Strukturänderung bei der eigentlichen Abspaltungsreaktion (und auch bei deren Umkehrung, der Addition) gewahrt bleibt, daß es aber nur nicht immer gelingt, die primären Reaktionsprodukte zu fassen, weil sie — vielleicht nach vorhergehender Spaltung in Ionen — zu rasch eine innermolekulare Atomverschiebung erleiden.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, welche die in dieser Arbeit benutzten Hydrierungs- und andere Apparaturen, sowie die zur Beschaffung der zu den Hydrierungen erforderlichen Mengen Platin und Palladium nötigen Mittel zur Verfügung stellte, sei an dieser Stelle herzlicher Dank ausgesprochen.

Digitized by Google

Über eine Umlagerung von Naphtochinon-phenylhydrazonen[1]);

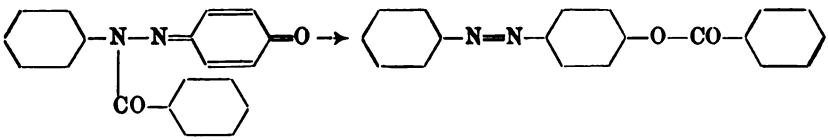
von *Richard Willstätter, Ernst Ulbrich, László Pogány* und *Carlo Maimeri.*

(Eingelaufen am 15. November 1929).

Theoretischer Teil.

A. Acylwanderung in den Naphtalinkern.

Die von W. Mc Pherson[2]) entdeckten Acyl-phenylhydrazone des Benzochinons verraten ihre Neigung, in das azoide System überzugehen, wenn man auf ihre ätherischen Lösungen Kaliumhydroxyd einwirken läßt: sie verwandeln sich in die isomeren Oxyazoverbindungen, die am Sauerstoff acyliert sind[3]), z. B.:



An einigen untersuchten Acylphenylhydrazonen des α-Naphtochinons läßt sich unter denselben Bedingungen die

[1]) Diese Abhandlung, die XXVIII. der Reihe „Über Chinoide", schließt sich an die XII. Mitteilung „Umlagerung von Chinon-phenylhydrazonen" [B. 40, 1432 (1907)] und an die XIV. Mitteilung „Über amphi-Naphtochinone II" [B. 40, 3971 (1907)] an. Die unserer Abhandlung zugrunde liegenden Untersuchungen sind in Zürich in den Jahren 1908—1912 im Chem. Laboratorium der Eidgenöss. Techn. Hochschule ausgeführt und niedergelegt worden in den Promotionsarbeiten von L. Pogány (1909) „Zur Kenntnis der Chinonhydrazone und Oxyazoverbindungen", von C. Maimeri (1911) „Zur Kenntnis der Acylphenylhydrazone von Chinonen" und von E. Ulbrich (1913) „Zur Kenntnis der Oxyazoverbindungen". Die Anteile der Mitarbeiter werden in den einzelnen Abschnitten mit P., M. und U. kenntlich gemacht.

[2]) B. 28, 2414 (1895) und Am. 22, 364 (1899).

[3]) R. Willstätter u. H. Veraguth, B. 40, 1432 (1907).

Digitized by Google

Acylwanderung nicht herbeiführen. Die Naphtochinon-phenylhydrazon-N-carbonsäureester beispielsweise verbinden sich zunächst mit Kaliumhydroxyd, dann zerfallen die Additionsprodukte unter Bildung von Phenylazo-naphtol. Es bedarf eines kräftigeren Anstoßes — und doch unter so vorsichtigen Bedingungen, daß nicht die ganze Menge hydrolysiert wird —, um die chinoide Verbindung durch Isomerisation zum Azokörper zu stabilisieren. Läßt man wasserfreies Bariumhydroxyd in methylalkoholischer Lösung unter Kühlung auf α-Naphtochinon-carbäthoxy- oder -carbomethoxy-phenylhydrazon wirken, so beobachtet man in einer Minute, während ein großer Teil der Verseifung anheimfällt, die Bildung isomerer Ester. Sie unterscheiden sich in allem wesentlich von den Ausgangsstoffen und von den leicht zugänglichen O-Acylverbindungen, wie folgender Vergleich zeigt:

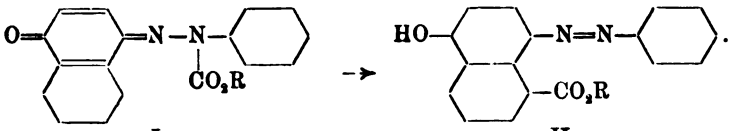
Eigenschaften	4-Phenylazo-1-naphtol-O-carbonsäure-äthylester	α-Naphtochinon-phenylhydrazon-N-carbonsäure-äthylester	Umlagerungsprodukt (C-carbonsäureester)
Schmelzpunkt und Aussehen	78° orangegelbe Prismen	149—150° hellzinnoberrote Prismen	224—225° tiefrote Prismen, käfergrünglänzend
Lösung in Äther	leicht löslich, orangefarbig	schwer löslich, tiefgelb	schwer löslich, rot
Verhalten gegen Alkalien	unlöslich	unlöslich	leicht löslich mit blaustichig roter Farbe
Verseifbarkeit	sehr leicht verseifbar	sehr leicht verseifbar	sehr schwer verseifbar
Farbe in konz. Schwefelsäure	blauviolett	orangerot	grün, dann blau, sich verfärbend

Die durch die Umlagerung entstehenden Ester müssen die Carboxy-alphyl-gruppe *kerngebunden* enthalten. Sie sind wahre Oxy-azofarbstoffe mit freiem Hydroxyl. Und sie zeichnen sich durch Schwerverseifbarkeit aus. Schon dieser Umstand zeigt, daß das Carboxyl nicht in den Benzolkern des Phenylhydrazonrestes gewandert ist. Übrigens sind

Digitized by Google

die neuen Ester auch in anderen Merkmalen von den Azofarbstoffen aus α-Naphtol und o-, m- und p-Diazobenzoesäureestern wesentlich verschieden.

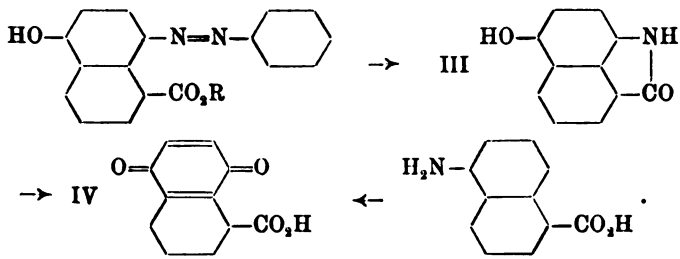
Die Widerstandsfähigkeit gegen hydrolysierende Mittel ist eine sterische Hinderung. Die Gruppe COOR ist in die Peristellung zum Azorest eingetreten:



I II

Man kennt noch keine Wanderung dieser Art. Der Beweis für diese Erklärung läßt sich sowohl durch Abbau erbringen wie durch Synthese, allerdings noch nicht der Ester selbst, sondern durch Synthese eines aus ihnen durch Abspaltung von Alkohol entstehenden Derivates.

Die Umlagerungsester verlieren bei der Reduktion durch Zinnchlorür in salzsaurer Lösung zugleich Alkohol und bilden ein Lactam, nämlich 1-Oxy-4,5-naphtostyril, das durch Bleidioxyd leicht zur 1,4-Naphtochinon-5-carbonsäure oxydiert wird:



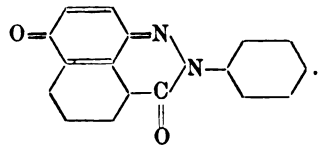
III IV

Diese Carbonsäure des α-Naphtochinons ist noch unbekannt; sie läßt sich zur Identifizierung leicht aus 1,5-Aminonaphtoesäure durch Oxydation, ebenfalls durch Bleidioxyd, gewinnen.

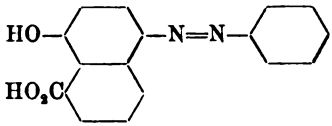
Wenn man die Hydrolyse der schwer verseifbaren Umlagerungsester erzwingt, so entsteht aus diesen tieforangeroten Azofarbstoffen durch Verlust von Alkohol eine in hellgelben Nadeln krystallisierende, alkaliunlösliche Ver-

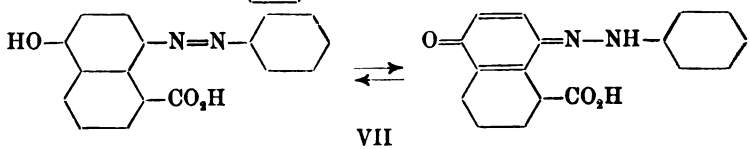
Digitized by Google

bindung. Dies ist ein Pyridazon, nämlich das Lactam der α-Naphtochinon-phenylhydrazon-5-carbonsäure:

V 

Zu diesem Lactam führt die Synthese auf folgenden Wegen. Die α-Naphtochinon-5-carbonsäure (IV) reagiert mit Phenylhydrazin in den beiden möglichen Richtungen:

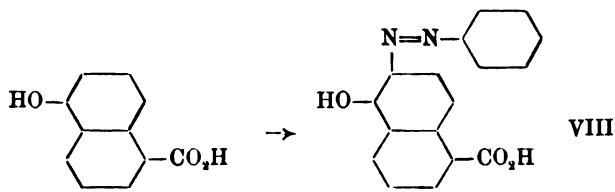
VI  und



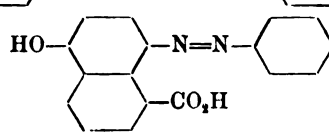
VII

Neben dem Hauptprodukt, der 4-Phenylazo-1-naphtol-8-carbonsäure (VI), entsteht, und zwar als Lactam der chinoiden Form, die 5-Carbonsäure des gewöhnlichen (1,4)-Phenylazo-naphtols (VII). Diese ist von uns nicht als freie Säure erhalten worden, sondern, abgesehen von der wasserfreien Form, nur in Form ihrer Ester und ihrer Alkalisalze, die aus dem Lactam mit heißer konz. Alkalilauge entstehen.

Auch die Kuppelung der α-Naphtol-5-carbonsäure mit Diazobenzol liefert direkt dasselbe Lactam. Infolge der



VIII

und 

Digitized by Google

sterischen Hinderung durch das Carboxyl kuppelt diese Oxynaphtoesäure vorwiegend, ihre Ester sogar quantitativ, in Orthostellung, aber man kann diese Phenyl-azonaphtol-carbonsäure (VIII) nicht reinigen, ohne der Beimischung von sodaunlöslichem hellgelbem Lactam zu begegnen, das durch Kuppelung in Parastellung entstanden ist:

Dieses Lactam ist in der Literatur schon erwähnt worden. K. Dziewoński, H. Galitzerówna und A. Kocwa[1]) sind ihm begegnet in ihrer Untersuchung „Über Konstitutionsfragen in der Acenaphten- und Naphtalingruppe".

B. Über chinoide und azoide Formen von Oxyazofarbstoffen in der Naphtalinreihe.

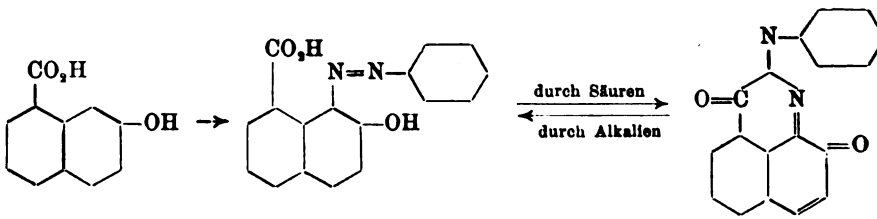
Das Carboxyl in geeigneter Stellung (ortho und peri) bedingt, daß die chinoiden Formen der Oxyazofarbstoffe festgelegt werden. Das leicht wandernde Wasserstoffatom tritt mit dem Hydroxyl der Säuregruppe aus und durch die Bildung der Pyridazon- und Pyrazolonringe wird die Beständigkeit der Chinonphenylhydrazone erhöht. Die Fixierung der chinoiden Formen beruht freilich auf dem Eintritt eines Acyls in den Phenylhydrazonrest, ähnlich wie bei den Acylphenylhydrazonen Mc Phersons, doch mit einer Besonderheit, die die Erscheinung merkwürdig macht: es sind Oxyazofarbstoffe, die sich so leicht am Stickstoff acylieren. Zwischenglieder sind ihre chinoiden Desmotropen.

Bei der erwähnten Kuppelung der 1,5-Oxynaphtoesäure entsteht sogleich die chinoide Form des p-Oxyazofarbstoffs, dieselbe, die auch aus der α-Naphtochinon-carbonsäure durch Phenylhydrazin gebildet wird. Hingegen liefert die Kuppelung der β-Naphtol-8-carbonsäure quantitativ den saueren Azofarbstoff. Aber beim Erwärmen auf 185° oder beim Lösen in Schwefelsäure oder beim Erhitzen mit verdünnten und mit schwächeren Säuren erfolgt der Übergang in das chinoide System und Wasserabspaltung:

---

[1]) Bull. Internat. de l'Acad. Polon. d. Sciences et Lettres **1926**, 209; C. **1926**, II, 2816; vgl. auch K. Dziewoński u. T. Stołyhwo, B. **57**, 1531 u. 1540 (1924).

Digitized by Google

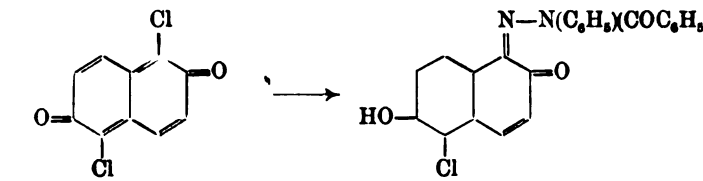


IX X XI

Das so entstehende Pyridazon ist natürlich in Alkalien unlöslich, aber beim Erhitzen löst es sich darin mit der Farbe der Oxyazoverbindungen auf. Säuert man die alkalische Lösung in der Wärme an, so scheidet sich die chinoide Verbindung ab, beim vorsichtigen Ansäuern in der Kälte dagegen die Azoform.

Die Wanderung der Acyle vom Stickstoff der Benzochinon-phenylhydrazone an den Sauerstoff nach Willstätter und Veraguth erweckt eine Vorstellung, wie leicht dieselbe Wanderung vom Wasserstoffatom vollzogen wird. Es ist kein Zweifel, die begünstigte Form der Oxyazofarbstoffe ist im allgemeinen die benzoide. Aber die Frage, in welchen Fällen und unter welchen Bedingungen die chinoiden Formen der Oxyazoverbindungen auftreten, ist ungelöst. Daß überhaupt 4-Oxyazoverbindungen als Chinone reagieren können, haben vor kurzem W. Borsche, W. Müller und C. A. Bodenstein[1]) durch ihre Umsetzung mit primären Hydrazinen zu Chinon-dihydrazonen bewiesen.

In einer Untersuchung über amphi-Naphtochinone hatten R. Willstätter und J. Parnas[2]) das Reaktionsprodukt aus Dichlor-amphi-naphtochinon mit as.-Benzoyl-phenylhydrazin, das unter Ersatz eines Chloratoms und Bindungswechsel entsteht, als Benzoyl-phenylhydrazon des 6-Oxy-5-chlor-β-naphtochinons aufgefaßt:



[1]) A. 472, 201 (1929). [2]) B. 40, 3971 (1907).

Digitized by Google

und an ihre Versuche über dieses β-Naphtolderivat den Satz geknüpft: „β-Benzolazo-α-naphtol und α-Benzolazo-β-naphtol und ihre Derivate sind *nicht* nach einem und demselben Schema zu interpretieren.“ [1]) Dieser Satz und die Formulierung des erwähnten Benzoyl-phenylhydrazons wurde von K. v. Auwers und F. Eisenlohr[2]) scharf angegriffen; sie nehmen an, das Benzoyl sei an den Sauerstoff (in β-Stellung) gewandert.[3]) Ihre Nachprüfung der Versuche von Willstätter und Parnas ist indessen unzureichend geblieben. In einigen zwanzig Jahren ist keine Entscheidung erbracht worden, ob im besprochenen Falle die Azoform vorliegt und ob wirklich in allen Fällen nur die Azoformen der Oxyazofarbstoffe existieren.

Wesentliche Aufschlüsse sind von einer Ausdehnung der absorptionsspektroskopischen Untersuchungen zu erwarten, die J. Moir[4]) sowie T. Uemura gemeinsam mit

---

[1]) β-Phenylazo-α-naphtol und α-Phenylazo-β-naphtol zeigen wesentliche Unterschiede. Ihre ungleiche Lichtabsorption ist auffallend; sie verrät sich durch schwächeres Tingieren des α-Naphtolderivats.

Wenn man die ätherischen Lösungen dieser Isomeren mit Alkalien, z. B. n-NaOH durchschüttelt, so wird das β-Phenylazo-α-naphtol dem Äther teilweise und bei Wiederholung immer wieder entzogen, während das α-Phenylazo-β-naphtol sich nicht in Alkali löst; seine ätherische Lösung gibt an Alkalien keine Spur des Farbstoffs ab. — Über das Verhalten der Oxyazo-Farbstoffe der Benzolreihe gegen Alkalien haben E. Puxeddu und M. Gennari beachtenswerte Untersuchungen ausgeführt (G. **51**, I, 147 u. 256 (1921); G. **52**, I, 216 u. 235 (1922).

[2]) B. **41**, 415 (1908). Vgl. ferner K. v. Auwers, B. 40, 2154 (1907) und **41**, 403 (1908); K. v. Auwers u. M. Eckardt, A. **359**, 336 (1908); K. v. Auwers u. H. Dannehl, A. **360**, 1 (1908); K. v. Auwers, A. **360**, 11 (1908) und **365**, 291 (1909); K. v. Auwers u. F. Eisenlohr, A. **369**, 209 (1909); K. v. Auwers, A. **378**, 210 (1910); K. v. Auwers u. F. Michaelis, B. **47**, 1297 (1914).

[3]) Wäre gemäß den Ausführungen von K. v. Auwers u. F. Eisenlohr das Benzoyl in dem Derivate des 2,6-Dioxynaphtalins an den Sauerstoff gebunden, so müßte dieses Acyl einmal quantitativ vom Stickstoff an den Sauerstoff wandern (bei der Darstellung), dann entgegengesetzt von Sauerstoff an den Stickstoff (bei der Spaltung durch Reduktion), auch hier fast quantitativ, denn in einigen unserer Versuche war bei der Reduktion die Ausbeute an Benzanilid nahezu die theoretische.

[4]) Soc. **119**, 1654 (1921); **121**, 1555 (1922); **123**, 2792 (1924).

Digitized by Google

N. Yokojima, Ch. Tau, T. Endo und Sh. Tabei[1]) unternommen haben; es scheint aber, daß die wichtigsten Vertreter der Azonaphtole noch nicht spektroskopisch geprüft worden sind.

Die Pioniere der größten Farbstoffklasse treten vom Schauplatz ihrer Lebensarbeit ab, ihre Arbeitsberichte vergilben und zermürben in den Registraturen der Fabriken. Die Chemie der Azofarbstoffe stellt aber in wissenschaftlicher Beziehung noch wichtige Fragen. Die vorliegende Arbeit will dazu anregen, die Eigenschaften und das Verhalten der Oxyazoverbindungen allgemeiner und gründlicher zu erforschen.

Experimenteller Teil.

I. Einige Acyl-phenylhydrazone des p-Benzochinons und α-Naphtochinons.

Phenylhydrazin-α-carbonsäuremethylester,
$C_6H_5.N.(CO_2CH_3).NH_2$. (U.)

Der asym. N-Carbonsäuremethylester eignet sich wie die von H. Rupe[2]) beschriebene Äthylverbindung zur Gewinnung Mc Phersonscher[3]) Chinonphenylhydrazone. Man erhält den Ester am besten (Ausbeute fast 60 Proc.) durch Acylierung des sym. Formylphenylhydrazins und Abspaltung des Formylrestes mittels verdünnter Mineralsäuren.

34 g β-Formyl-phenylhydrazin wurden in $^1/_2$ Liter trocknem Benzol suspendiert und mit 23,7 g Chlorameisensäuremethylester $4^1/_2$ Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die entstandene Lösung wurde von etwas gebildetem Phenylhydrazin-chlorhydrat abfiltriert und eingedampft. Das hinterbliebene Öl kochten wir 35 Minuten mit 350 ccm 3-proc. Schwefelsäure. Dann wurde unter Kühlung alkalisch gemacht und ausgeäthert; die scharf getrocknete Lösung schied auf Zusatz von absoluter ätherischer Chlorwasser-

[1]) C. 1927, I, 1577 u. 3086; 1927, II, 2285 u. 2745; 1928, II, 40.
[2]) B. 29, 829 (1896); H. Rupe u. H. Labhardt (irrtümlich Gebhardt genannt) B. 32, 10 (1899).
[3]) B. 28, 2414 (1895) und Am. 22, 364 (1899).

Digitized by Google

stoffsäure das Chlorid ab, das unmittelbar für die Kondensationen dienen konnte.

Die freie Base, die in Alkohol und Äther leicht, in Benzol sehr leicht, in Petroläther ziemlich schwer löslich ist, erhielten wir durch Fällen mit Petroläther aus ätherischer Lösung und Umkrystallisieren aus warmem Petroläther in rhomben- und rhomboederförmigen Täfelchen vom Schmelzp. 69—70°.

0,1476 g Subst.: 23,2 ccm N (19°, 723 mm).

$C_8H_{10}O_2N_2$ Ber. N 16,86 Gef. N 17,04.

Phenylhydrazin-α-carbonsäureamid, $C_6H_5.N(CONH_2).NH_2$. (M.)

Das von M. Busch und A. Walter[1]) zuerst dargestellte 2-Phenylsemicarbazid gewinnen wir am besten aus Aceton-phenylhydrazon durch Addition von Cyansäure (in essigsaurer Lösung, viel glatter als nach A. Arnold[2])) und Abspaltung des Acetons; die Ausbeute beträgt etwa 70 Proc. d. Th.

145 g Aceton-phenylhydrazon wurden in 600 ccm 70-proc. Essigsäure gelöst und mit 99 g feingepulvertem Kaliumcyanat in kleinen Anteilen und unter ständigem Rühren versetzt. Unter Wärmeentbindung schied sich der Harnstoff des Hydrazons ab, vollständig beim Verdünnen. Die Hydrolyse wird am besten mit kleinen Mengen ausgeführt. Je 2 g werden mit 20 ccm 5-proc. Schwefelsäure unter Zusatz von 5 ccm Alkohol 20—30 Minuten ohne Rückfluß erwärmt, so daß das Aceton entweicht. Zur Isolierung vereinigt man viele Portionen und scheidet nach Alkalischmachen mit Ammoniak die Hauptmenge durch Aussalzen mit Ammonsulfat ab.

p-Chinon-phenylhydrazon-N-carbonsäureamid,
$O{=}C_6H_4{=}N{-}N(C_6H_5)(CONH_2)$. (M.)

Bei der Einwirkung des Phenylhydrazin-α-carbonamids auf Benzochinon beobachtet man oft nur Oxyazobenzol.

---

[1]) B. **36**, 1357 (1903). [2]) B. **30**, 1015 (1897).

Digitized by Google

Aber bei Anwendung sehr reiner Reagenzien und bei tiefer Temperatur entsteht glatt das acylierte Phenylhydrazon.

1,5 g 2-Phenylsemicarbazid wurden in 200 ccm Wasser von 0° unter Zusatz weniger Tropfen 2 n-Salzsäure aufgenommen und mit der ebenso kalten Lösung von 1 g Chinon in 120 ccm 10-proc. Alkohol vermischt. Bei fortdauernder Kühlung scheidet sich das Kondensationsprodukt in verfilzten hellgelben Nadeln vom Schmelzp. 114—115° ab.

0,2172 g Subst.: 0,5150 g CO_2, 0,0945 g H_2O. — 0,2162 g Subst.: 34,7 ccm N (18°, 717 mm).

$C_{13}H_{11}O_2N_3$	Ber.	C 64,69	H 4,60	N 17,42
	Gef.	„ 64,66	„ 4,83	„ 17,40.

Das Hydrazon löst sich ziemlich schwer in kaltem Alkohol, sehr leicht beim Erwärmen; auch Aceton, Benzol, Petroläther lösen es schwer in der Kälte. Alle warmen Lösungsmittel, sogar trockner Petroläther, bewirken Zersetzung unter Bildung des Oxyazofarbstoffs. Da aber das Phenylhydrazon in Chloroform sehr leicht, in Äther sehr schwer löslich ist, kann es durch Aufstellen einer Chloroformlösung neben Äther unter einer Glocke umkrystallisiert werden. So entstehen lange sechsseitige bernsteingelbe Prismen, die bei 115—117° unter Zersetzung schmelzen. Sogar beim Liegen an der Luft erfolgt Verwitterung unter Dissoziation in Cyansäure und Oxyazobenzol.

Trotz dieser außerordentlichen Neigung zum Übergang des chinoiden in das azoide System gelingt nicht die Umlagerung zum p-Oxy-azobenzol-O-carbonsäureamid; unter den Versuchsbedingungen von Willstätter und Veraguth entsteht nur Oxyazobenzol. Die Gruppen Acetyl, Benzoyl, Carboxyalphyl wandern intramolekular in diesen Acyl-phenylhydrazonen, aber $H_2N—C{=}O$ verliert so leicht Cyansäure, daß nur das Wasserstoffatom zum Chinonsauerstoff hingelangt. Das O-Carbonsäureamid ließ sich auch noch nicht aus dem entsprechenden Chlorid bilden; es zerfiel unter Verlust von Cyansäure. Dagegen ist das entsprechende O-Carbonsäure-dimethylamid beständig, und zwar, wie es scheint, im Gegensatz zum Isomeren, dem N-Carbonsäure-dimethylamid.

Digitized by Google

p-Oxyazobenzol-O-carbonsäure-chlorid und -dimethylamid. Durch Einwirkung von Phosgen in Benzol auf Oxyazobenzol bei Gegenwart von Dimethylanilin nach dem Verfahren von F. Hofmann[1]) entsteht das Säurechlorid; nach Abfiltrieren von salzsaurem Dimethylanilin beseitigt man den Rest der aromatischen Base durch häufiges Waschen mit 2 n-Schwefelsäure und das überschüssige Phosgen mit Sodalösung. Auch der unveränderte Anteil des Oxyazobenzols läßt sich durch Waschen mit Lauge entfernen. Nach Trocknen und Einengen der Lösung krystallisierte das Chlorid (12,3 g aus 10 g Oxyazobenzol) in hellgelben Blättchen vom Schmelzp. 86—87°. Er ist in Benzol und Chloroform sehr leicht, in Benzin schwer löslich.

0,2003 g Subst.: 0,1131 g AgCl.

$C_{13}H_9O_2N_2Cl$ Ber. Cl 13,61 Gef. Cl 13,94.

Das Chlorid reagiert mit Dimethylamin glatt in trockner Benzollösung. Das Reaktionsprodukt ist zwar im Schmelzpunkt dem Oxyazobenzol ähnlich, aber schon die Unlöslichkeit in Alkalien zeigt, daß das Hydroxyl besetzt ist. Zur Reinigung muß man es aus Aceton in Äther überführen und die ätherische Lösung öfters mit verdünnter Lauge waschen. Das Amid bildet dünne gelbe Prismen vom Schmelzp. 152°; es ist leicht löslich in heißem Alkohol und Ligroin, schwer in Äther und Gasolin.

0,1673 g Subst.: 0,4110 g CO_2, 0,0864 g H_2O. — 0,2394 g Subst.: 34,6 ccm N (21°, 718 mm).

$C_{15}H_{15}O_2N_3$ Ber. C 66,88 H 5,62 N 15,62
Gef. „ 67,00 „ 5,78 „ 15,45.

α-Naphtochinon-phenylhydrazon-N-carbonsäure-methyl- und äthylester (I). (P., M., U.)

Die Kondensation der Naphtochinons mit den Acylphenylhydrazinen verläuft am besten in kalter essigsaurer Lösung.

8 g α-Chinon wurden in 120 ccm Eisessig gelöst und mit 10,25 g Carboxymethyl-phenylhydrazin-chlorhydrat, ge-

[1]) Z. Ang. 21, 1986 (1908).

Digitized by Google

löst in 55 ccm Wasser, versetzt. Nach einigen Minuten beginnt das Hydrazon auszukrystallisieren; die Ausbeute überschreitet 80 Proc. Beim Umkrystallisieren aus Benzol–Petroläther oder Holzgeist erhält man dünne gelbe Prismen oder derbe dunkelgelbrote, oft rhomboederförmige Tafeln. Schmelzp. 181—182°.

0,2516 g Subst.: 21,82 ccm N (20°, 724 mm).

$C_{18}H_{14}O_3N_2$ Ber. N 9,15 Gef. N 9,38.

Der Phenylhydrazon-N-carbonsäureester ist in Alkalien ganz unlöslich, in konz. Schwefelsäure orangerot löslich. In Äther ist die Substanz schwer, in Methylalkohol auch warm sehr schwer löslich, in Äthylalkohol, Benzol und Ligroin heiß leicht, in der Kälte ziemlich leicht löslich.

Die Äthylverbindung krystallisiert in diamantglänzenden hellroten Prismen und in rhombenförmigen Blättchen vom Schmelzp. 149 bis 150°. In Chloroform und Eisessig löst sie sich sehr leicht, in Sprit leicht, in warmem Holzgeist und Äther ziemlich leicht, in Petroläther sehr schwer. Beim Erwärmen mit 20-proc. Schwefelsäure erfolgt Hydrolyse zum Benzolazo-α-naphtol. Bei gelindestem Erwärmen mit Phenylhydrazin tritt Reduktion ein, die schließlich zum Aminonaphtol führt.

0,1499 g Subst.: 0,3703 g CO_2, 0,0703 g H_2O. — 0,1899 g Subst.: 15,8 ccm N (24°, 726 mm). — 0,2669 g Subst.: 21,9 ccm N (18°, 727 mm).

$C_{19}H_{16}O_3N_2$ Ber. C 71,21 H 5,03 N 8,77
Gef. „ 71,01 „ 5,25 „ 8,83, 9,01.

Die Reaktion von Willstätter und Veraguth, Wanderung des Acyls vom Stickstoff zum Chinonsauerstoff, läßt sich mit diesen Acylhydrazonen des Naphtochinons nicht erzielen. Beim Schütteln der Lösung von Carbäthoxylhydrazon in wasserfreiem Äther mit gepulvertem Atzkali entstehen braunviolette Flocken eines Kaliumsalzes, das durch Wasser unter Rückbildung der Ausgangsverbindung zerlegt wird. Es ist ein Additionsprodukt mit Kaliumhydroxyd.

0,2375 g Subst.: 0,0605 g K_2SO_4.

$C_{19}H_{16}O_3N_2.KOH$ Ber. K 10,40 Gef. 10,56.

Schüttelt man die Suspension der Kaliumverbindung im Äther tagelang, so ändert sich ihre Beschaffenheit;

Digitized by Google

nun ist ein neues Kaliumsalz entstanden, ein wasserlösliches, das des Benzolazo-naphtols.

α-Naphtochinon-phenylhydrazon-N-carbonsäureamid, $C_{17}H_{13}O_2N_3$. (P., M.)

Versetzt man die Eisessiglösung des Chinons (1,6 g in 80 ccm) mit asym. Carbonamid-phenylhydrazin (1,5 g in 30 ccm Wasser) und wenigen Tropfen 2 n-Salzsäure, so scheidet sich das Hydrazon (2 g) über Nacht in rotbraunen Prismen aus. Es löst sich in heißem Essigester leicht, in kaltem schwer und krystallisiert daraus in perlmutterglänzenden, bernsteingelben Prismen, die in ihrer Form an Quarz erinnern. Sie schmelzen bei 172—173° unter Zersetzung. In Chloroform ist die Substanz sehr leicht, in Äther und Benzol sehr schwer löslich.

0,1547 g Subst.: 0,3973 g CO_2, 0,0579 g H_2O. — 0,1508 g Subst.: 0,3884 g CO_2, 0,0631 g H_2O. — 0,1702 g Subst.: 23,2 ccm N (23°, 722 mm).

$C_{17}H_{13}O_2N_3$	Ber.	C 70,05	H 4,50	N 14,46
	Gef.	„ 70,01, 70,24	„ 4,19, 4,68	„ 14,57.

Bei kurzem Kochen mit Alkohol oder Eisessig entsteht quantitativ Benzolazo-naphtol; auch beim Schütteln der wasserfreien Ätherlösung mit pulverförmigem Ätzkali bildet sich nur das Kaliumsalz des Farbstoffs.

α-Naphtochinon-diphenylhydrazon, $C_{22}H_{16}ON_2$. (P.)

Während Benzochinon nach R. C. Farmer und A. Hantzsch[1]) nur oxydierend auf Diphenylhydrazin einwirkt, liefert uns Naphtochinon mit demselben in alkoholisch-wäßriger Lösung, der ein wenig Salzsäure zugesetzt wird, rasch und vollständig das Hydrazon, das sich aus Methylalkohol und aus Ligroin gut umkrystallisieren läßt und weichselrote Prismen mit prächtigem blauviolettem Oberflächenglanz bildet. Unter dem Mikroskop beobachtet man gelbrote Stäbe und zugespitzte Prismen, ferner hellgelbe rhombenförmige Täfelchen, oft mit zwei abgestumpften

[1]) B. 32, 3089 (1899), und zwar S. 3096.

Digitized by Google

Ecken. Schmelzp. 186—187°. In Benzol und Chloroform ist die Substanz leicht, in Äther ziemlich schwer löslich, stark tingierend. Konz. Schwefelsäure löst violettblau, dann blau, blaugrün und schließlich trübe grün. Phenylhydrazin reduziert bei Wasserbadtemperatur.

0,2057 g Subst.: 0,6153 g CO_2, 0,0942 g H_2O. — 0,2814 g Subst.: 22,6 ccm N (22°, 730 mm). — 0,2512 g Subst.: 20,2 ccm N (22°, 729 mm).

$C_{22}H_{16}ON_2$	Ber.	C 81,43	H 4,97	N 8,66
	Gef.	„ 81,58	„ 5,12	„ 8,69, 8,59.

Die chinoide Gruppierung ist in diesem Hydrazon recht beständig; tagelanges Schütteln oder Kochen der Atherlösung mit Atzkali bewirkt keine Änderung.

II. Acylwanderung vom Stickstoff in den Naphtalinkern.

Umlagerung der α-Naphtochinon-phenylhydrazon-N-carbonsäureester durch Bariumhydroxyd. (P., M., U.).

Während es unter den milden Bedingungen der Umlagerung von Acyl-phenylhydrazonen des Benzochinons nicht gelingt, bei den entsprechenden Naphtochinonderivaten vor oder neben der Verseifung Acylwanderung herbeizuführen, findet bei der Einwirkung eines kräftigeren alkalischen Mittels, nämlich Bariumhydroxydlösung, aber dann nur bei vorsichtigster Behandlung, die Umlagerung zu isomeren Estern neben der Hydrolyse zum Benzolazo-α-naphtol statt. Zwischenprodukte der Hydrolyse mit Acylen an Sauerstoff sind nicht zu beobachten. Die Ausbeuten an den umgelagerten Estern betrugen 20 bis fast 30 Proc. Sie lassen sich außer durch Fraktionierung mit Lösungsmitteln auch auf Grund eines Aciditätsunterschieds vom Benzolazo-naphtol trennen; sie sind noch schwächer sauer.

In ein weites, etwa 80 ccm fassendes Glasrohr, das mit einer Anzahl Glaskügelchen beschickt ist, tragen wir 2 g aufs feinste gepulvertes Carbäthoxy-hydrazon ein und übergießen es mit 40 ccm 15-proc. Lösung von wasserfreiem Bariumhydroxyd in absolutem Methylalkohol, die man zuvor

Digitized by Google

mit Eis-Kochsalz gut abgekühlt hat. Das Gefäß wird mit einem Stopfen verschlossen und 1—2 Minuten sehr kräftig geschüttelt. Dann ist der Versuch beendet. Man läßt das Rohr kurze Zeit aufrecht stehen, um noch unangegriffenes Ausgangsmaterial, etwa 0,2 g, sich absetzen zu lassen, und fällt dann das Produkt durch Eingießen der Lösung in gekühlte, überschüssige verdünnte Salzsäure. Das rückständige Ausgangsmaterial im Rohre wird nochmals mit etwas Barytlösung behandelt, bis alles gelöst ist.

Bei dieser Reaktion verwandelt sich das feinpulverige Carbäthoxy-hydrazon zuerst in Flocken eines Barytadditionsproduktes, dann geht dieses mit prächtig blaustichig roter Farbe in Lösung. Führt man nun die Substanz in Äther über, so geht auch gebildetes Benzolazo-naphtol als Bariumsalz in den Äther, nämlich infolge der Beimischung von etwas Methylalkohol. Schüttelt man aber die ätherische Lösung mit Wasser durch, so schlägt ihre Farbe von rot in braungelb um, und der Azofarbstoff zieht in die wäßrig-alkalische Schicht.

Sowohl der umgelagerte Ester wie Benzolazo-naphtol werden dem Äther durch $^n/_4$-KOH zum Teil entzogen; die alkalische Lösung des neuen Esters ist blaustichig rot, violett tingierend, die des einfachen Azofarbstoffs gelbstichig rot, gelb tingierend[1]).

Die Isolierung des umgelagerten Äthylesters gelingt am einfachsten durch Auflösen des getrockneten Gemisches von Reaktionsprodukten in siedendem Äther. Beim raschen Abkühlen fällt die Hauptmenge des neuen Esters aus; eine zweite Fraktion scheidet sich beim Sättigen der ätherischen Lösung mit Wasser ab. Aus der Mutterlauge krystallisiert bei mäßigem Einengen unverändertes Ausgangsmaterial (etwa 10 Proc.), weiterhin nur Phenylazo-α-naphtol.

Beim Carbomethoxy-hydrazon fanden wir es vorteilhaft,

[1]) „Tingieren" nennen wir die Farberscheinung, die eine dünne Flüssigkeitsschicht zeigt, z. B. eine Lösung beim Bewegen im Reagierglas, beim Benetzen der Glaswand. So beobachtet man z. B. bei verschiedenen Lösungen von ähnlicher Farbe, ob sie schwach oder stark Licht absorbieren.

Digitized by Google

nur 1-proc. absolute methylalkoholische Lösung von Bariumhydroxyd anzuwenden. In einer Pulverflasche werden 200 g dieser Lösung auf -10^0 abgekühlt, dann 4 g feinst gepulvertes Hydrazon eingetragen. Unter diesen Bedingungen muß man etwa 2 Stunden an der Maschine schütteln. Die Ausbeute an isomerem Methylester, der dem Gemisch durch Äther im Soxhletextraktionsapparat entzogen wird und sogleich rein auskrystallisiert, beträgt etwas über 1,1 g.

1-Naphtol-4-phenylazo-5-carbonsäureester (II). (P., M., U.).

Der *Methyl*ester bildet, aus Holzgeist umkrystallisiert, bräunlichrote Krystalle mit starkem grünem Oberflächenglanz. Unter dem Mikroskop sind sie rubinrot, haben die Form von Messerklingen und bilden zu dreien Büschel. Schmelzp. 223° (u. Zers.). Der Ester ist in Benzol und Chloroform und siedendem Methylalkohol leicht löslich, in kaltem wie in Äther schwer löslich. Konz. Schwefelsäure löst im ersten Augenblick grün bis grünblau, darauf blau, dann schmutzig violett. Durch die Löslichkeit in Alkalien ist der Ester vom Ausgangsmaterial und vom O-Carbonsäureester sofort zu unterscheiden.

0,1652 g Subst.: 0,4276 g CO_2, 0,0686 g H_2O.

$C_{18}H_{14}O_3N_2$	Ber.	C 70,56	H 4,61
	Gef.	„ 70,59	„ 4,65.

Der *Äthyl*ester ist in Chloroform und Aceton leicht, in heißem Alkohol ziemlich leicht löslich, schwer in kaltem und in Äther, sehr schwer in Ligroin. Aus Alkohol umkrystallisiert, bildet der Ester käfergrünglänzende, rubinrote Prismen vom Schmelzp. 224—225°. Unter dem Mikroskop erscheinen sie purpurrot, oft mit gipsähnlichen Schwalbenschwanzzwillingen. Die benzolische Lösung ist heiß hellgelb, kalt gelbbraun. Phenylhydrazin wirkt erst bei sehr hoher Temperatur ein.

0,1480 g Subst.: 0,1875 g CO_2, 0,0682 g H_2O. — 0,1795 g Subst.: 14,2 g N (18°, 718 mm).

$C_{19}H_{16}O_3N_2$	Ber.	C 71,21	H 5,03	N 8,77
	Gef.	„ 71,41	„ 5,15	„ 8,60.

Eine bemerkenswerte Eigenschaft der 1-Oxy-4-phenylazo-naphtoesäureester ist ihre Schwerverseifbarkeit, die sich durch sterische Hinderung erklärt. Während alle im

Digitized by Google

folgenden beschriebenen Isomeren leicht verseifbar sind, bleiben diese Ester mit Peristellung von Carboxyl und Azogruppe unter üblichen Versuchsbedingungen unverändert. Dennoch läßt sich die Esterhydrolyse erzwingen; dann erfolgt aber zugleich Wasserabspaltung und Bildung eines Pyridazonringes (siehe unten).

Reduktion zum 1-Oxy-4,5-naphtostyril (III). (U.).

Die durch die Acylwanderung gebildeten Ester werden durch Zinnchlorür zu Amino-naphtol-carbonsäureestern reduziert und sofort unter Abspaltung von Alkohol in ein Lactam umgewandelt.

1,3 g vom ungelagerten Ester wurden in 50 ccm Methylalkohol gelöst und in der Siedehitze mit 6,5 ccm Wittscher[1]) Zinnsalzlösung behandelt. Nach starkem Verdünnen fällten wir das Zinn mit Schwefelwasserstoff vollständig aus und engten das Filtrat im Vakuum stark ein. Dann krystallisierte fast die theoretische Menge (0,9 g) eines aschefreien, farblosen Reduktionsproduktes aus. Es reagiert mit 2 n-Soda bei gewöhnlicher Temperatur nicht, ist also keine Carbonsäure; aber es löst sich darin beim Kochen mit rötlich brauner Färbung. In 2 n-Natronlauge erfolgt Lösung schon in der Kälte.

Das Naphtostyril ist in Alkohol leicht, in kaltem Äther äußerst schwer, in Benzol warm leicht, kalt schwer löslich. Daraus krystallisiert es in verfilzten farblosen Nädelchen vom Schmelzp. 170°.

0,1224 g Subst.: 0,3245 CO_2, 0,0433 g H_2O. — 0,1321 g Subst.: 9,52 ccm N (24°, 722 mm).

$C_{11}H_7O_2N$	Ber.	C 71,33	H 3,81	N 7,57
	Gef.	„ 71,20	„ 3,90	„ 7,63.

Oxydation zur α-Naphtochinon-5-carbonsäure. (IV) (U.)

Um die Oxydation zum Chinon auszuführen, hydrolysierten wir zunächst das Lactam zur Aminosäure. 0,5 g Oxynaphtostyril wurden in 2 n-Natronlauge gelöst und zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf 0° säuerten wir mit

[1]) B. 21, 3477 (1888).

Digitized by Google

verdünnter Schwefelsäure tropfenweise an, versetzten mit weiteren 15 g 25-proc. Schwefelsäure und 4 g Bleidioxyd und schüttelten 5 Stunden lang. Das Oxydationsprodukt (0,5 g) isolierten wir, wie im folgenden bei Naphtochinoncarbonsäure beschrieben, und fanden es mit ihr in allen Eigenschaften übereinstimmend. Es bestand in hellgelben Prismen, die sich bei 164° bräunten und bei 185° schwarzbraun färbten. Die Identifizierung wurde durch die Reaktion mit Phenylhydrazin vervollständigt. Dabei entstanden die wohlcharakterisierten zwei Kondensationsprodukte: die in violettroten Nadeln von Schmelzp. 213—214° krystallisierende 1-Naphtol-4-phenylazo-8-carbonsäure (0,1 g) und die strohgelben Nädelchen (0,15 g) vom Schmelzp. 203° des Pyridazons von der Formel $C_{17}H_{10}O_2N_2$, dessen Beschreibung nun folgt.

Lactam der α-Naphtochinon-phenylhydrazon-5-carbonsäure (V) (U.)

Die schwer verseifbaren peri-Carbonsäureester des Phenylazo-naphtols werden nur durch tagelanges Kochen mit 18-proc. Schwefelsäure, zweckmäßig unter Zusatz von Kaliumsulfat, oder mit einem Gemisch von 48-proc. Bromwasserstoffsäure (2 Vol.) mit Eisessig (5 Vol.) entalkyliert. Auch dabei blieb ein Teil unangegriffen und ein Teil der Substanz wurde verdorben. Man beobachtet dabei die Bildung gelber Kryställchen (0,1 g aus 0,3 g Ester), die sehr schwer löslich sind. Man kann sie in sehr viel Äther überführen und daraus durch häufiges Waschen mit verdünnter Lauge beigemischtes Ausgangsmaterial entfernen. Dabei wird die Farbe der Lösung sehr hell. Beim Einengen scheiden sich strohgelbe Nädelchen aus, die, aus Alkohol umkrystallisiert, bei 202,5 bis 203° schmelzen.

Synthese aus α-Naphtochinon-5-carbonsäure. Die durch Oxydation von 1,5-Amino-naphtoesäure erhaltene Chinoncarbonsäure (Abschnitt III) liefert bei der Kondensation mit Phenylhydrazin-chlorhydrat einen saueren Azofarbstoff und in geringer Menge eine in Soda unlösliche, überhaupt indifferente Verbindung von hellgelber Farbe. Man erhält sie am besten, wenn die Naphtochinon-carbonsäure (1,9 g)

Digitized by Google

in viel (100 ccm) absolutem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Lösung (80 ccm) von Phenylhydrazin-chlorhydrat (1,5 g) vermischt wird. Schon nach einigen Minuten beginnt das gelbe Kondensationsprodukt in reinem Zustand auszukrystallisieren. Nach 12 Stunden betrug seine Menge 0,5 g. Sein Schmelzpunkt blieb beim Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol konstant 202,5—203°.

Dieses Lactam ist auch in siedendem Alkohol schwer löslich, ferner sehr schwer in kaltem Äther, dagegen leicht in Benzol. In Alkalien löst es sich bei gewöhnlicher Temperatur nicht, aber beim Kochen mit 50-proc. Kalilauge entsteht eine tiefrote, rotviolett tingierende Azofarbstofflösung; durch Ansäuern des phenylazo-naphtol-carbonsauren Salzes und Ausäthern kann man das Lactam zurückgewinnen. Konzentrierte Schwefelsäure löst mit orangegelber Farbe.

0,1259 g Subst.: 0,3423 g CO_2, 0,0428 g H_2O. — 0,1084 g Substanz: 10,2 ccm N (15°, 724 mm).

$C_{17}H_{10}O_2N_2$	Ber. C 74,43	H 3,68	N 10,22
	Gef. „ 74,15	„ 3,80	„ 10,44.

Synthese aus 1-Oxy-5-naphtoesäure. Dieses Naphtol kuppelt überwiegend in Orthostellung. Man braucht aber den ausfallenden Farbstoff nur in Soda aufzunehmen, um darin eine alkaliunlösliche Beimischung von hellgelber Farbe aufzufinden. Sie betrug 17 Proc. der theoretischen Menge. 3,3 g Oxynaphtoesäure wurden mit 5,9 krystallisiertem Natriumacetat in 50 ccm Wasser gelöst und mit der Diazolösung aus 1,6 g Anilin vermischt. Das sodaunlösliche Produkt der Kuppelung lag nach Umkrystallisieren aus Alkohol in hellgelben Nädelchen vom Schmelzp. 202,5—203° vor und zeigte auch die anderen Merkmale des beschriebenen Pyridazons.

III. 1,4-Naphtochinon-5-carbonsäure (IV) (U.).

Das Ausgangsmaterial, die 1,5-Amino-naphtoesäure, gewannen wir aus α-Naphtoesäure durch Nitrierung und Reduktion mit Ferrohydroxyd nach A. G. Ekstrand.[1]) Anstatt nach der Literaturangabe die beiden entstehenden Nitroverbindungen, 1,5 und 1,8, von denen erstere allein direkt

[1]) J. pr. [2] **38**, 139 und 241 (1888) und zwar S. 244.

Digitized by Google

esterifizierbar ist, durch Esterbildung zu trennen, reduzieren wir das Gemisch und verwandeln durch Ansäuern mit Schwefelsäure und Erwärmen die peri-Aminosäure in das in Säuren und Alkalien unlösliche Naphtostyril. Die als Sulfat mitabgeschiedene 1,5-Amino-naphtoesäure wird aus dem Gemisch durch Natronlauge in Lösung gebracht und wieder als Sulfat gefällt.

15,2 g Amino-naphtoesäure-sulfat verrieben wir mit 300 g 25-proc. Schwefelsäure und 100 g Bleidioxyd und schüttelten die Paste 5 Stunden lang. Der Bleischlamm, den wir absaugten, enthielt $^3/_4$ des Oxydationsproduktes. Der gut ausgewaschene Schlamm wurde im Exsiccator getrocknet und im Extraktionsapparat mit Äther ausgezogen, zweckmäßig mit dem ätherischen Auszug der vom Bleischlamm abfiltrierten Lösung. Aus dem Äther krystallisiert beim Einengen die Naphtochinon-carbonsäure in reinem Zustand aus, in derben rhombenförmigen Täfelchen; Ausbeute 8,1 g. Die Substanz zeigt keinen Schmelzpunkt; bei 164° beginnt Bräunung, von 170—185° vertieft sich die Farbe von braun zu schwarz.

Beim Sublimieren im Vakuum bildet die Säure derbe hellgelbe Prismen. Sie ist in Äther schwer löslich, bei 18° in 375, beim Sieden in 195 Teilen; leicht löslich ist sie in Äthyl- und Methylalkohol und heißem Eisessig, dagegen unlöslich in Benzol und Ligroin in der Kälte.

0,2510 g Subst: 0,5991 g CO_2, 0,0680 g H_2O.

$C_{11}H_6O_4$	Ber. C 65,33	H 2,99
	Gef. „ 65,10	„ 3,03.

Die Naphtochinon-carbonsäure löst sich in 2 n-Soda unter Aufbrausen mit gelber Farbe, die rasch in dunkelbraun übergeht. Bei der Reduktion z. B. mit Zinkstaub und Essigsäure oder Jodwasserstoffsäure mit rotem Phosphor oder mit Zinkstaub zeigt das Chinon eigentümliches Verhalten. Eine anfangs auftretende intensivere Farbe, tiefgelb, zeigt Kondensation an, wahrscheinlich zunächst zu einer Diketo-binaphtylen-dicarbonsäure.

Die α-Naphtochinon-5-carbonsäure kondensiert sich (im Gegensatz zu ihren Estern, in denen sogleich der chinoide

Digitized by Google

Kern reagiert) mit Phenylhydrazin zu den beiden möglichen einfachen Phenylhydrazonen. Überwiegend entsteht 1-Oxy-4-phenylazo-8-carbonsäure (Abschnitt IV), daneben das oben behandelte Lactam der chinoiden Form von 1-Oxy-4-phenylazo-5-carbonsäure.

Bleisalz. In alkoholischer Lösung gibt die Säure mit Bleizucker einen dunkelgelben Niederschlag, der aus mikroskopischen Würfelchen von regulärer Form besteht.

0,1181 g Subst.: 0,0579 g $PbSO_4$. — 0,1575 g Subst.: 0,0779 g $PbSO_4$.

$(C_{10}H_5O_2.CO_2)_2Pb$ Ber. Pb 33,99 Gef. Pb 33,49, 33,79.

Methylester. Die Oxydation des 1,5-Aminonaphtoesäuremethylesters mit Bleidioxyd liefert den Ester, der aus Äther und aus Methylalkohol in tiefgelben vierkantigen Prismen vom Schmelzp. 115,5—116° krystallisiert. In Äther schwer, in Benzol leicht löslich.

0,2054 g Subst.: 0,5036 g CO_2, 0,0688 g H_2O.

$C_{12}H_8O_4$ Ber. C 66,65 H 3,73
Gef. „ 66,87 „ 3,75.

Äthylester. Lange gelbe Prismen vom Schmelzp. 79,5—80°; er löst sich leicht in Alkohol (in 6 Teilen) und Benzol, sehr leicht in warmem Äther, gar nicht in Petroläther.

0,1577 g Subst.: 0,3920 g CO_2, 0,0616 g H_2O.

$C_{13}H_{10}O_4$ Ber. C 67,80 H 4,38
Gef. „ 67,79 „ 4,37.

IV. Isomere Carbonsäuren des Phenylazo-α-naphtols.

O-Carbonsäurederivate des 4-Phenylazo-1-naphtols (P).

O-Carbonsäureäthylester. Bei den acylierten Naphtochinon-phenylhydrazonen war Acylwanderung an den Sauerstoff, so wie bei den Benzochinonderivaten, nicht zu beobachten. Die O-Acylverbindungen sind aber nicht etwa zu wenig beständig. Phenylazo-naphtol, gelöst in der zehnfachen Menge Pyridin, wurde bei 0° mit Chlorkohlensäureester tropfenweise versetzt. Nach einigen Stunden gießt man in gekühlte Schwefelsäure und äthert aus; nach häufigem Waschen mit Schwefelsäure, dann mit Kalilauge enhält die Lösung den reinen Ester, der in dichroitischen, orangegelben und zinnoberroten Prismen vom Schmelzp. 78° krystallisiert. Leicht löslich in Äther, sehr leicht in heißem Alkohol,

Digitized by Google

schwer in kaltem Holzgeist. Die Lösungen sind orangerot, schwach tingierend. Phenylhydrazin wirkt erst bei sehr hoher Temperatur ein.

0,2385 g Subst.: 0,6238 g CO_2, 0,1109 g H_2O. — 0,1771 g Subst.: 14,7 ccm N (23°, 729 mm).

$C_{19}H_{16}O_3N_2$	Ber. C 71,21	H 5,03	N 8,77
	Gef. „ 71,33	„ 5,20	„ 8,92.

O-Carbonsäure-dimethylamid. Phosgen in Benzol wirkt bei Gegenwart von Dimethylanilin unter Bildung des O-Carbonsäurechlorids, das im rohen krystallinischen Zustand, nur mit Petroläther gewaschen (0,2382 g Subst: 0,1104 AgCl; $C_{17}H_{11}O_2N_2Cl$ ber. Cl 11,42, gef. 11,46), mit Dimethylamin in Benzollösung umgesetzt wird. Das Dimethylamid bildet braungelbe und rötlich braune Prismen von fast kubischer Form. Es ist leicht löslich in Äther, schwer in Petroläther, sehr leicht in Benzol und heißem Methylalkohol, schwer in kaltem. Schmelzp. 107—108°.

0,1687 g Subst.: 0,4410 g CO_2, 0,0847 g H_2O. — 0,1918 Subst.: 23,6 ccm N (21°, 718 mm).

$C_{19}H_{17}O_2N_3$	Ber. C 71,44	H 5,37	N 13,17
	Gef. „ 71,30	„ 5,61	„ 13,15.

Die analoge Verbindung mit primärer Amidgruppe zerfällt bei vorsichtiger Bildung unter Abspaltung von Cyanat.

1-Oxy-2phenylazo-5-naphtoesäure (VIII) (M., U.).

Der Äthylester der 1,5-Oxynaphtoesäure kuppelt infolge der sterischen Hinderung, die sich bei ihm stärker bemerkbar macht als bei der freien Säure, nur in Orthostellung. Der Umlagerungsester kann daher nicht so gewonnen werden. Der Farbstoff, im Verhalten und in den Farberscheinungen dem 2-Phenylazo-1-naphtol ähnlich, entsteht aus dem Oxynaphtoesäureester (Siedep. 212—213° unter 11 mm, Schmelzp. etwa 72—73°) mit Diazobenzol in natriumacetathaltiger wäßrig-alkoholischer Lösung. Der größte Teil fällt aus und der Rest wird durch Ausäthern gewonnen. Die braunrote ätherische Lösung des Esters färbt 2 n-Soda gar nicht, 2 n-Natronlauge nur schwach an. In konz. Schwefelsäure löst er sich kirschrot. Der Ester ist in Alkohol und Äther leicht, in Benzol etwas schwerer löslich. Er bildet feine dunkelorangerote Nädelchen vom Schmelzp. 161—162°.

Digitized by Google

0,1805 g Subst.: 0,4719 g CO_2, 0,0819 g H_2O.

$C_{19}H_{16}O_5N_2$	Ber. C 71,21	H 5,03
	Gef. „ 71,20	„ 5,08.

Beim Verseifen mit methylalkoholischem Kali entsteht quantitativ die Säure vom Schmelzp. 251°. Diese ist Hauptprodukt der Kuppelung von freier 1,5-Oxy-naphtoesäure, Nebenprodukt das oben beschriebene Lactam der Peri-verbindung. Die Farbsäure, durch die Kuppelung bei Gegenwart von Natriumacetat gewonnen und durch Aufnehmen in verdünnter Sodalösung gereinigt, bildet nach Umkrystallisieren aus Benzol oder Alkohol mikroskopische granatrote Stäbchen, die bei 248° sintern und scharf bei 251° schmelzen.

0,1384 g Subst.: 0,3541 g CO_2, 0,0507 g H_2O.

$C_{17}H_{12}O_5N_2$	Ber. C 69,84	H 4,14
	Gef. „ 60,78	„ 4,10

In Alkohol, Eisessig, Äther ist der Farbstoff in der Kälte ziemlich leicht, in der Siedehitze leicht löslich, in Benzol kalt schwer, heiß ziemlich leicht. Konz. Schwefelsäure löst ihn kirschrot mit carminrotem Tingieren. Die alkalische Lösung ist bräunlich orangerot, die Strichfarbe des Pulvers dunkelbraunrot.

1-Oxy-4-phenylazo-8-naphtoesäure (VII) (U., M.).

Die α-Naphtochinon-5-carbonsäure liefert, z. B. in wenig Eisessig gelöst und mit wäßriger Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin vermischt, beim Stehen in der Kälte das Gemenge der beiden möglichen Mono-phenylhydrazone. Ebenso verläuft die Reaktion in alkoholischer Lösung. Die α-Naphtol-4-phenylazo-5-carbonsäure bildet das alkaliunlösliche Lactam (siehe Abschnitt II) und bleibt beim Aufnehmen des Hauptproduktes, der 8-Carbonsäure, mit Sodalösung ungelöst. Die Ausbeute an Farbsäure ist dem angewandten Chinon gleich. Zur Reinigung führten wir noch den Farbstoff in Äther über, worin er sich tieforangerot mit gelbem Tingieren löst, und fällten mit Ammoniakgas das Ammonsalz aus. Die wieder in Freiheit gesetzte und aus Alkohol umkrystallisierte Carbonsäure bildete granatrote und violettrote sechsseitige

Digitized by Google

Prismen und Nadeln vom Schmelzp. 214° (u. Zers.). Sie ist in Alkohol leicht, in Äther ziemlich schwer, in Benzol schwer löslich. Aus Äther geht sie in Soda mit tiefrotvioletter Farbe. Auch konz. Schwefelsäure löst dunkelviolettrot.

0,1614 g Subst.: 0,4125 g CO_2, 0,0607 g H_2O. — 0,1131 g Subst.: 9,8 ccm N (15°, 722 mm).

$C_{17}H_{13}O_3N_3$	Ber.	C 69,84	H 4,14	N 9,59
	Gef.	„ 69,70	„ 4,21	„ 9,54.

Die peri-Oxy-naphtoesäure lieferte uns beim Kuppeln in alkoholischer Lösung quantitativ den nämlichen Farbstoff.

0,1635 g Subst.: 0,4195 g CO_2, 0,0618 g H_2O. — 0,1542 g Subst.: 13,5 ccm N (18°, 718 mm).

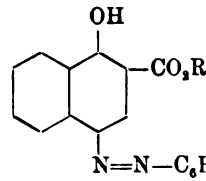
$C_{17}H_{13}O_3N_3$	Gef.	C 69,96	H 4,19	C 9,57.

Der *Methylester*, der sich nicht aus dem Ester der Naphtochinoncarbonsäure mit Phenylhydrazin erhalten läßt, wurde zum Vergleich mit dem Umlagerungsester durch Erhitzen der Farbstoffsäure mit viel und starker methylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure gewonnen. Er ist in Äther und Methylalkohol beim Sieden leicht, in der Kälte ziemlich schwer löslich. Die ätherische Lösung ist tiefgelb, sie färbt Natriumbicarbonat nicht an; auch beim Durchschütteln mit 2n-Soda bleibt diese farblos, erst beim Verdünnen entsteht eine tieforangefarbige Lösung. Nach Umkrystallisieren aus Methylalkohol und aus Benzol schmilzt der Ester bei 179,5—180° (u. Zers.). In konz. Schwefelsäure löst er sich blaustichig tiefrot, während das Isomere mit Carboxyl in 5 (Umlagerungsester) eine anfangs grüne, dann blaue Lösung gibt.

0,1780 g Subst.: 15,4 ccm N (19°, 711 mm).

$C_{18}H_{14}O_3N_2$	Ber.	N 9,15	Gef. N 9,21.

1-Oxy-4-phenylazo-2-naphtoesäureäthylester,



(M. U.).

Der aus α-Oxy-naphtoesäureester in alkoholischer Lösung mit Diazoniumchlorid gebildete Farbstoff krystallisiert in orangeroten, unter dem Mikroskop intensiv gelben sechsseitigen Prismen vom Schmelzpunkt 94,5°. Er ist leicht löslich in Äther, Alkohol, Benzol, spielend in Chloroform, sehr schwer in Petroläther. Die ätherische Lösung ist

Digitized by Google

orangefarbig mit starkem gelbem Tingieren. Die Farbe schlägt beim Schütteln mit Soda in hellgelb um, das gebildete Natriumsalz wird durch Schütteln der ätherischen Schicht mit Wasser hydrolysiert. In verdünnter Alkalilauge löst sich der Ester orangerot, in konz. Schwefelsäure dunkelrot.

0,1729 g Subst.: 0,4513 g CO_2, 0,0795 g H_2O. — 0,2698 g Subst.: 21,5 ccm N (22,5°, 725 mm).

$C_{19}H_{16}O_2N_2$	Ber.	C 71,21	H 5,03	N 8,77
	Gef.	„ 71,18	„ 5,11	„ 8,55.

Die zugehörige *Farbsäure* haben schon R. Nietzki und A. L. Guiterman[1]) sowie E. Grandmougin[2]) beschrieben. Die Frage, ob sie gleich der Periverbindung innermolekular unter Ringbildung Wasser abzuspalten vermag, war von Bedeutung, um so mehr als Nietzki und Guiterman Differenzen der Analysen auf teilweise Anhydridbildung zurückführten.

Der aus 1,2-Oxy-naphtoesäure mit Diazoniumchlorid in Alkohol erhaltene Farbstoff bildet, aus Alkohol und Eisessig umkrystallisiert, metallglänzende braunrote Prismen, die bei 209° u. Zers. schmelzen (nach Grandmougin 194°). In Alkohol leicht, in Äther, Benzol, Chloroform und kaltem Eisessig schwer löslich. Durch verdünnte Soda läßt sich die Farbsäure ihrer Ätherlösung, die goldgelb ist, nur allmählich entziehen. Die Lösung in Schwefelsäure ist violettrot. Analysen verschiedener, auch aus dem Ester durch Verseifung dargestellter Präparate deuten nicht auf Anhydridbildung hin.

0,1610 g Subst.: 0,4128 g CO_2, 0,0608 g H_2O. — 0,2515 g Subst.: 0,6421 CO_2, 0,0935 g H_2O. — 0,2146 g Subst.: 18,9 ccm N (24°, 724 mm). — 0,2195 g Subst.: 19,2 ccm N (15°, 724 mm).

$C_{17}H_{12}O_3N_2$	Ber.	C 69,84	H 4,14	N 9,59
	Gef.	„ 69,82, 69,74	„ 4,20, 4,16	„ 9,34, 9,70.

Auch die Einwirkung von Essigsäureanhydrid und Natriumacetat bewirkt keine Lactambildung, sondern glatte Acetylierung. Die hellbraunroten Nädelchen der Acetylverbindung schmolzen roh bei 190°, nach Umkrystallisieren aus Benzol und Xylol bei 191° (nach Grandmougin große Krystalle vom Schmelzp. 124°, nicht analysiert). In Alkohol und Eisessig leicht, in kaltem Benzol schwer löslich. Die ätherische Lösung, die gelb und nicht tingierend ist, gibt allen Farbstoff an 2 n-Sodalösung ab. Auch die alkalische Lösung zeigt, daß mit der Acetylierung Farbaufhellung einherging.

0,1826 g Subst.: 0,4563 g CO_2, 0,0689 g H_2O.

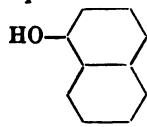
$C_{19}H_{14}O_4N_2$	Ber.	C 68,23	H 4,22
	Gef.	„ 68,15	„ 4,22.

---

[1]) B. **20**, 1275 (1887). [2]) B. **39**, 3609 (1906).

Digitized by Google

1-Oxy-naphtalin-4-azo-o-, m- und p-benzoesäureäthylester,



(M.).

Die aus α-Naphtol mit den drei Diazobenzoesäuren entstehenden Farbsäuren hat M. Woroshzow[1]) dargestellt; nur die p-Verbindung war schon von E. Noelting und E. Grandmougin[2]) als nicht krystallisiert zu erhaltendes schwärzliches Pulver beschrieben worden. Aus den genauen Angaben (mit Analysen) der Dissertation von Maimeri sei nur kurz angeführt:

Farbstoff aus o-Diazobenzoesäure: Schmelzp. 255,5° (korr.); sehr schwer löslich in kaltem Alkohol sowie in Äther mit goldgelber Farbe, sehr wenig tingierend. In konz. Schwefelsäure blau.

m-Verbindung: Schmelzp. 236° (korr.). In Schwefelsäure violettrot.

p-Verbindung: aus Nitrobenzol oder Amylalkohol umkrystallisiert, rotbraunes Krystallmehl; Schmelzpunkt (u. Zers.) 295° (korr.). In konz. Schwefelsäure violettrot.

Über die *Äthylester*, die für die Beurteilung der beobachteten Acylwanderung von Belang waren, enthält die Literatur keine Angaben.

o-Verbindung. In überschüssiger 20-proc. Salzsäure diazotierter Anthranilsäureester kuppelt mit der alkoholischen α-Naphtollösung und liefert ziegelrote, unter dem Mikroskop intensiv braungelbe sechsseitige Prismen vom Schmelzp. 181,5°. Sehr schwer löslich in Äther, sehr leicht in Chloroform, schwer in kaltem, leicht in heißem Alkohol und Eisessig. Krystallisiert aus Benzol mit $^1/_2$ Mol C_6H_6.

0,7203 g Subst. verloren bei 110° 0,0771 g.

$C_{19}H_{16}O_3N_2 \cdot {}^1/_2 C_6H_6$ Ber. $^1/_2 C_6H_6$ 10,23 Gef. $^1/_2 C_6H_6$ 10,69.

0,1986 g Subst.: 0,5079 g CO_2, 0,0890 g H_2O. — 0,2304 g Subst.: 18,2 ccm N (18°, 719,5 mm).

$C_{19}H_{16}O_3N_2$	Ber.	C 71,21	H 5,03	N 8,77
	Gef.	„ 71,37	„ 5,01	„ 8,56.

m-Verbindung. Dunkelgranatrotes mikrokrystallinisches Pulver vom Schmelzp. 200°. Leicht in Alkohol, schwer in kaltem Benzol

[1]) C. **1916**, II, 256. [2]) B. **24**, 1597 (1891) und zwar S. 1600.

Digitized by Google

löslich. Aus heißem Benzol fällt der Farbstoff als eisenhydroxydähnliches Gel aus, das sich beim Absaugen oder Pressen in rotes krystallines Pulver (ohne Krystallbenzol) verwandelt. In Äther ziemlich leicht mit orangeroter Farbe und gelbem Tingieren löslich. In Schwefelsäure rotviolett.

0,1512 g Subst.: 0,3943 g CO_2, 0,0699 g H_2O. — 0,1634 g Subst.: 13,1 ccm N (18°, 719 mm).

$C_{19}H_{16}O_3N_2$	Ber.	C 71,21	H 5,03	N 8,77
	Gef.	„ 71,11	„ 5,00	„ 8,70.

p-Verbindung. Nur durch häufiges Umkrystallisieren aus Alkohol, Eisessig und Benzol rein zu erhalten als bordeauxrotes Pulver, aus mikroskopischen dünnen braungelben Prismen bestehend. Schmelzp. 239,5°. In Äther ziemlich schwer, in heißem Alkohol leicht, in kaltem schwer, in heißem Eisessig sehr leicht, in kaltem sehr schwer löslich. In Schwefelsäure violettrot.

0,1446 g Subst.: 0,3783 g CO_2, 0,0652 g H_2O. — 0,1539 g Subst.: 12,3 ccm (17°, 711 mm).

$C_{19}H_{16}O_3N_2$	Ber.	C 71,21	H 5,03	N 8,77
	Gef.	„ 71,34	„ 5,00	„ 8,62.

Keiner von den drei Estern spaltet innermolekular Alkohol ab.

V. Ringbildung bei peri- und ortho-carboxylierten Oxyazoverbindungen.

Die Lactambildung tritt wie bei dem Derivat des p-Phenylazo-naphtols auch beim isomeren o-Oxyazofarbstoff ein, der das Carboxyl in Peri-Stellung zum Azobenzolrest enthält. Analog diesen zwei Fällen von Pyridazonbildung verläuft Pyrazolonbildung bei Ortho-Stellung von Carboxyl und Azorest, wofür ein Beispiel aus der Benzolreihe angeführt werden soll.

Carboxyl in meta-Stellung zum Phenyl-azo-Rest fanden wir unfähig zu einer gleichartigen Ringbildung (vgl. 1-Oxy-4-phenylazo-2-naphtoesäure).

2-Oxy-8-naphtonitril, $C_{11}H_7ON$ (U.).

Die 8-Carbonsäure des β-Naphtols (= 7-Oxy-α-naphtoesäure) gewannen wir über das Nitril aus 2-Oxy-8-aminonaphtalin. Die Diazotierung gelingt sehr gut bei Gegenwart von etwas Kupfersulfat nach dem für andere Aminonaphtole

Digitized by Google

erfundenen Verfahren der Anilin- und Extrakt-Fabriken vormals J. R. Geigy[1]).

32 g Amino-β-naphtol wurden mit 200 ccm Wasser verrieben und mit der konz. Lösung von 14,1 g Natriumnitrit und 1 g Kupfersulfat vermischt. Nach Abkühlen auf 0° ließen wir langsam 19,6 g konz. Schwefelsäure, mit 50 ccm Wasser verdünnt, zutropfen. Die orangefarbige Diazoniumsalzlösung filtrierte man von einer geringen Menge Rückstand ab und ließ sie in siedende Kupfercyanürlösung (aus 50 g Kupfervitriol und 55 g Kaliumcyanid in je 100 ccm Wasser) langsam einlaufen. Sobald die Stickstoffentwicklung beendet ist, saugen wir von entstandenem Harz ab. Der Rückstand wird mit 20-proc. Salzsäure so lange gekocht, als sich Blausäure entwickelt, dann filtriert, und mit diesem Filtrat das zuerst erhaltene Filtrat angesäuert. Dabei fällt zunächst eine Kupfercyanürverbindung des Nitrils aus. Man setzt so lange Salzsäure hinzu, bis alles Kupfer in Lösung gebracht ist. Durch Ausäthern wird nun das Nitril gewonnen (7,1 g). Dasselbe krystallisiert aus Äther oder aus Benzol, worin es in der Kälte schwer, beim Kochen leicht löslich ist, in langen farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 195—196°.

Die ätherische Lösung ist farblos und fluoresciert blau, die Lösung in verdünnter Lauge zeigt schön grüne Fluorescenz.

0,1203 g Subst.: 0,3450 g CO_2, 0,0476 g H_2O. — 0,1870 g Subst.: 14,2 ccm N (17°, 723 mm).

$C_{11}H_7ON$	Ber.	C 78,07	H 4,17	N 8,29
	Gef.	„ 78,21	„ 4,42	„ 8,33.

2-Oxy-1-phenylazo-8-naphtonitril (gemäß X). (U.)

Das Oxy-nitril kuppelt in alkoholischer Lösung bei Gegenwart von Natriumacetat glatt mit Diazoniumchlorid. Der Farbstoff löst sich in heißem Alkohol leicht, in kaltem schwer und krystallisiert daraus in glänzenden, langen, tiefroten vierseitigen Prismen vom Schmelzp. 206°. In

[1]) D. R. P. 171024 und 172446 (C. 1906, II, 474).

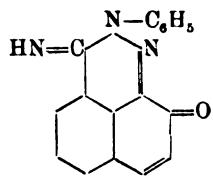
Digitized by Google

Äther ist die Substanz leicht löslich mit tiefgelber Farbe und gelbem Tingieren. Konz. Schwefelsäure löst braunorangerot.

0,0713 g Subst.: 0,1948 g CO_2, 0,0272 g H_2O. — 0,1246 g Subst.: 17,5 ccm N (17°, 727 mm).

$C_{17}H_{11}ON_3$	Ber.	C 74,69	H 4,06	N 15,39
	Gef.	„ 74,51	„ 4,26	„ 15,50.

Während α-Phenylazo-β-naphtol — in scharfem Gegensatz zu dem wirklich azoiden β-Phenyl-α-naphtol — wie ein Chinon-phenylhydrazon in Alkalien gänzlich unlöslich ist, verteilt sich dieses Substitutionsprodukt zwischen Äther und Lauge. Zwar färbt die ätherische Lösung 2 n-Natronlauge nicht an (verdünntere Lauge ein wenig und zwar immer wieder bei beliebigem Wiederholen), aber beim Erwärmen des Nitrilfarbstoffs mit 2 n-Lauge entsteht eine tiefgelbbraune Lösung. Sie scheidet beim Erkalten die Hauptmenge aus und bleibt sehr hellgelb gefärbt. Das 2-Oxy-1-phenylazo-8-naphtonitril ist zweifellos azoid; es ist nicht etwa zu einem Ring von der Formel



umgelagert. Die Verbindung spaltet nämlich beim Erhitzen mit 18-proc. Schwefelsäure kein Ammoniak ab, sondern ist sehr beständig.

2-Oxy-8-naphtoesäure (IX). (U.).

Das Nitril liefert beim Kochen mit Bromwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,49) β-Naphtol, aber durch 50-proc. Kalilauge (25 ccm für 1 g) wird es bei langem Erhitzen unter Rückfluß quantitativ zur Oxy-naphtoesäure verseift. Beim Ansäuern der verdünnten Lösung fällt die Carbonsäure aus,

Digitized by Google

die in kaltem Wasser fast unlöslich, in siedendem leicht löslich ist. Sie krystallisiert daraus in farblosen mikroskopischen Nadeln, die bei 250° schmelzen. In Alkohol und Eisessig ist die Säure schon kalt leicht, in Äther in der Kälte schwer löslich, in Benzol unlöslich.

Die alkalische Lösung zeigt blaustichig grüne, die ätherische blauviolette Fluorescenz.

0,1568 g Subst.: 0,4019 g CO_2, 0,0603 g H_2O.

$C_{11}H_8O_3$	Ber.	C 69,97	H 4,27
	Gef.	„ 69,91	„ 4,30.

Diese β-Naphtolcarbonsäure ist nicht mehr neu. Sie ist identisch mit der von F. A. Royle und J. A. Schedler[1]) dargestellten 7-Oxy-α-naphtoesäure vom Schmelzp. 253—254°. Diese Forscher gingen von α-Naphtylamin-7-sulfosäure aus. Über die Diazoverbindung gelangten sie zur Cyan-sulfosäure und durch Verseifen zur Carboxyl-sulfosäure, die mit Ätzkali verschmolzen wurde.

2-Oxy-1-phenylazo-8-naphtoesäure (X). (U.).

Die Kuppelung der 2,8-Oxy-naphtoesäure liefert nur in sodaalkalischer Lösung ein ganz einheitliches Produkt bei quantitativem Verlauf. Die Farbsäure ist in Natriumbicarbonat vollkommen löslich, und zwar mit orangeroter Farbe und etwas rotviolettem Tingieren, die Lösung in Ätzalkalien ist braunrot, in konz. Schwefelsäure bromfarbig, in Äther gelb. In letzterem, auch in Chloroform ist der Farbstoff schwer löslich, in kaltem Alkohol sehr schwer, in kaltem Benzol unlöslich. Er bildet ein leuchtend zinnoberrotes Pulver, das, nach Umkrystallisieren aus Alkohol, aus vierseitigen Prismen mit Pyramidenflächen besteht, die in der Durchsicht braunorangefarbig sind. Im Schmelzpunktsröhrchen erfolgt bei 185° Aufhellung zu hellgelb und erst bei 237—238° Schmelzen.

0,2076 g Subst.: 0,5312 g CO_2, 0,0772 g H_2O. — 0,1281 g Subst.: 11,2 ccm N (15°, 726 mm).

---

[1]) Soc. 123, 1641 (1923); siehe auch R. Dziewoński, H. Galitzerówna u. A. Kocwa, C. 1926, II, 2816.

Digitized by Google

$C_{17}H_{12}O_3N_2$	Ber.	C 69,84	H 4,14	N 9,59
	Gef.	„ 69,79	„ 4,16	„ 9,73.

Lactam der 2-Oxy-1-phenylazo-8-naphtoesäure (XI). (U.).

Der Ringschluß erfolgt: 1. beim Erhitzen der Farbsäure auf 185°; 0,2785 g wurden in 20 Minuten gewichtskonstant mit Verlust von 0,0171 g; für $C_{17}H_{12}O_3N_2$ ber. H_2O 6,17, gef. 6,14;

2. beim Auflösen in konz. Schwefelsäure;

3. in einigen Minuten beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure oder mit Eisessig, rasch mit Essigsäureanhydrid, auch bei längerem Kochen mit Alkohol;

4. beim Ansäuern der alkalischen Lösung in der Hitze, während bei gewöhnlicher Temperatur die Farbsäure ausgefällt wird.

Das Pyridazon krystallisiert in hellgelben Nädelchen vom Schmelzp. 237—238°. Es ist in der Kälte in Äther spurenweise, in Essigester äußerst schwer, in Alkohol sehr schwer, in Benzol schwer löslich, beim Kochen in Benzol leicht, in Alkohol schwer. In Alkalien ist das Lactam in der Kälte unlöslich, beim Kochen wird es zur Farbsäure hydrolysiert. Die Lösungen sind gelb, auch die Strichfarbe ist rein gelb ohne metallischen Glanz.

0,2121 g Subst.: 0,5782 g CO_2, 0,0705 g H_2O. — 0,2073 g Subst.: 19,4 ccm N (16°, 726 mm).

$C_{17}H_{10}O_2N_2$	Ber.	C 74,43	H 3,68	N 10,22
	Gef.	„ 74,35	„ 3,72	„ 10,36.

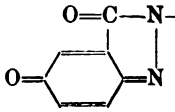
Diese Verbindung ist schon vor einigen Jahren von R. Dziewoński, H. Galitzerówna und A. Kocwa[1]) beschrieben worden (Schmelzp. 238—240°).

---

[1]) C. **1926**, II, 2816.

Digitized by Google

Lactam der p-Chinon-phenylhydrazon-carbonsäure (der 1-Oxybenzol-4-phenylazo-3-carbonsäure). (U.).



Den Azofarbstoff aus m-Oxybenzoesäure hat zuerst H. Limpricht[1]) dargestellt, später haben ihn E. Grandmougin und H. Freimann[2]) untersucht und sie sind auf sein eigentümliches Verhalten beim Versuch der Acetylierung aufmerksam geworden. Beim Erhitzen mit Natriumacetat und Essigsäureanhydrid trat Farbwechsel ein, dann krystallisierten schwarzblaue Nadeln aus, in denen Grandmougin und Freimann mit Recht ein Produkt der Wasserabspaltung zwischen der Azogruppe und dem orthoständigen Carboxyl vermuteten. Eine Analyse wurde nicht mitgeteilt.

Die Farbsäure krystallisiert in flachen Prismen vom Schmelzp. 216°. Sie sind in der Aufsicht gelbbraun mit blauviolettem Glanz, in der Durchsicht gelb, wie auch die ätherische Lösung tiefgelb ist. In Alkohol und Eisessig in der Kälte ziemlich leicht, spielend in der Hitze löslich.

0,1806 g Subst.: 0,4261 g CO_2, 0,0676 g H_2O. — 0,2079 g Subst.: 21,9 ccm N (17°, 730 mm).

$C_{13}H_{10}O_3N_2$	Ber.	C 64,44	H 4,16	N 11,57
	Gef.	„ 64,35	„ 4,19	„ 11,68.

Erhitzt man diesen Farbstoff mit der $2^1/_2$ fachen Menge Essigsäureanhydrid zum Sieden, so schlägt die Farbe plötzlich in tief rotviolett um. In diesem Augenblick unterbrechen wir das Erhitzen und kühlen rasch ab. Erhitzt man nämlich weiter, so verdirbt das Produkt. Beim Erkalten scheiden sich 80 Proc. der angewandten Substanz in blauschimmernden Kryställchen ab, die unter dem Mikroskop als derbe vierseitige Täfelchen erscheinen und in der

[1]) A. **263**, 224 (1891) und zwar S. 234.
[2]) J. pr. [2] **78**, 384 (1908) und zwar S. 407.

Digitized by Google

Durchsicht tief braunorangerote Farbe haben. Der Schmelzpunkt war wegen der dunklen Farbe des Pulvers nicht genau zu bestimmen, er schien bei 181° zu liegen. Die Anhydroverbindung ist in kaltem Alkohol, Äther und Benzol leicht löslich mit permanganatähnlicher Farbe.

0,1091 g Subst.: 0,2764 g CO_2, 0,0370 g H_2O. — 0,2003 g Subst.: 0,5111 g CO_2, 0,0653 g H_2O. — 0,1028 g Subst.: 11,6 ccm N (15°, 727 mm). — 0,1562 g Subst.: 17,5 ccm N (13°, 725 mm).

$C_{13}H_8O_2N_2$	Ber.	C 69,61	H 3,60	N 12,50
	Gef.	„ 69,10, 69,59	„ 3,79, 3,65	„ 12,57, 12,56.

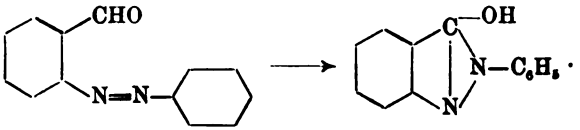
In dieses Lactam verwandelt sich die Farbsäure weder beim Auflösen in konz. Schwefelsäure noch bei stundenlangem Kochen mit Eisessig oder verdünnter Schwefelsäure. Es gelang auch nicht, die freie Carbonsäure aus dem Pyrazolon zurück zu gewinnen. Konz. Schwefelsäure löst mit grasgrüner Farbe, die aber bald in trübes Rotbraun übergeht. Auch die Lösungen in 2 n-Natronlauge oder Soda sind nicht haltbar. Der ätherischen Lösung wird die Substanz durch Alkalihydroxyd sofort entzogen, durch Soda bei wiederholtem Ausschütteln. Die alkalischen Lösungen sind hellgelb, aber sie werden braun und mißfarbig. Die Unbeständigkeit gegen Alkali unterscheidet das Lactam von der Farbsäure.

Die beträchtlichen Unterschiede zwischen den beschriebenen Produkten der Ringschließung in peri- und in ortho-Stellung besagen, daß nur bei den Naphtol-(peri-) derivaten die wechselseitigen Umlagerungen zwischen azoider und chinoider Form leicht erfolgen und die freien Phenylhydrazon-carbonsäuren, wenn sie aus den Lactamen zurückgebildet werden, beständig genug sind, um sich wieder in die Azofarbstoffe umwandeln zu können. Die Gruppierung der p-Benzochinon-phenylhydrazon-carbonsäure scheint sich schwieriger einzustellen. Und wird sie durch Hydrolyse des Pyrazolons z. B. bei Einwirkung von Alkalien freigelegt, so ist sie so leicht zersetzlich, daß sie verdirbt, ehe die Stabilisierung zum Azofarbstoff erfolgt ist.

Die Lactambildung der Chinon-phenylhydrazon-carbon-

Digitized by Google

säure dürfte analog sein den von P. Freundler[1]) an vielen Beispielen sorgfältig untersuchten Synthesen von Indazolen aus Phenylazo-o-benzylalkohol, -benzaldehyd und -benzoesäure z. B. dem Übergang des Aldehyds in C-Oxy-phenyl-indazol:



München, den 15. November 1929.

---

[1]) C. r. **136**, 1136 (1903); **138**, 1276 u. 1425 (1904); Bl. [3] **31**, 862 u. 868 (1904); C. r. **142**, 1153 (1906); C. r. **143**, 909 (1906); Bl. [4] **1**, 206, 228 u. 234 (mit de Laborderie) (1907); C. r. **149**, 1135 (1910); C. r. **152**, 1256 (1911); Bl. [4] **9**, 601, 735 u. 778 (1911).

(Abgeschlossen am 24. Dezember 1929.)

Digitized by Google

Chromoproteide der Rotalgen. II. Spaltung mit Pepsin und Säuren. Isolierung eines Pyrrolfarbstoffs;

von *Rudolf Lemberg.*

Mit 10 Figuren im Text und 5 Figuren auf Tafel.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg.]

(Eingelaufen am 29. November 1929.)

In der ersten Abhandlung[1]) über die Chromoproteide der Rotalgen, Phycoerythrin und Phycocyan, war berichtet worden, daß das in Amylalkohol lösliche Produkt der Pepsinspaltung von Phycoerythrin in seinem spektralen Verhalten und in seiner Komplexsalzbildung dem „Urobilin" ganz analog war. Ein wesentlicher Unterschied zwischen Urobilin und dieser Substanz, die wegen ihrer Urobilin-Reaktionen „Phycobilin" genannt wurde, war jedoch ihre leichte Löslichkeit in Wasser, ihre Unlöslichkeit in Chloroform und Äther. Ein ähnlicher Stoff wurde nun aus dem Noriphycocyan auf demselben Wege erhalten; er glich entsprechend dem Bilicyanin, einem Oxydationsprodukte des Bilirubins.

Es war nun die Frage, ob diese Analogie mit den Gallenfarbstoffen nur eine zufällige war, wofür die Verschiedenheiten in der Löslichkeit hätten sprechen können, oder ob die letzteren durch sekundäre Faktoren bedingt würden. Die Entscheidung über diese Frage ist von über das Einzelproblem herausragender Bedeutung.

Eine Durchsicht der Literatur zeigt, daß eine ganze Anzahl ähnlicher gallenfarbstoffverdächtiger Pigmente beschrieben ist, von denen viele dem damals isolierten „Phycobilin" in Löslichkeit und Eigenschaften gleichen. Von anderen, an natives Eiweiß gebundenen, wie dem Crenilabrusblau von v. Zeyneck, war bereits in der ersten Abhandlung die Rede. Häufiger sind jedoch die Pigmente, die durch ihre Löslichkeit in saurer alkoholischer Lösung ausgezeichnet sind. In dem Stoffe, den L. Dor[2]) aus dem Tegument der Limaxarten er-

[1]) A. 461, 46 (1928).

[2]) C. r. Soc. Biol. 54, 54 (1902).

Digitized by Google

halten hat und der von Dhéré Rufin genannt worden ist, liegt nach den Untersuchungen von F. N. Schultz[1]) und Ch. Dhéré, Chr. Baumeler und A. Schneider[2]) allerdings kein Gallenfarbstoff vor, aber in beiden Arbeiten finden sich eine ganze Reihe von Zitaten über das Vorkommen solcher Urobilinoide bei Invertebraten. Insbesondere erweisen die Arbeiten von Schultz, daß in den Gehäusen mancher Seeschnecken (Haliotis, Turbo, Trochus) sich derartige Pigmente vorfinden. Schultz hat auch schon gezeigt, daß die Reduktion dieser Stoffe mit Natriumamalgam zu „Hydrobilirubin" führt, und hat daraus mit der Zurückhaltung, die das verschiedene Verhalten gegen Lösungsmittel[3]) erforderte, auf nahe Verwandtschaft mit den Gallenfarbstoffen geschlossen. Ähnliche Pigmente[4]) sind in Aktinien, in Käferflügeldecken der Coccinelliden (Marienkäferchen), in Mückenlarven[5]), bei Vanessen[6]) (Pfauenauge) usw. beobachtet worden, aber die Angaben erreichen die von Schultz nicht an Exaktheit. Schließlich sind die grünen und blauen Pigmente in den Vogeleierschalen schon von C. Liebermann[7]) für Gallenfarbstoffe erklärt worden, Stoffe, die auch H. Fischer[8]) bei der Isolierung des Ooporphyrins begegnet sind. Sie sind ebenfalls in Alkohol, nicht in Chloroform löslich und enthalten wahrscheinlich Eiweißreste (hoher Stickstoffgehalt, Schwefelgehalt). Daß sie den Gallenfarbstoffen zum mindesten nahe stehen, hat H. Fischer erwiesen. Ihre eingehendere Untersuchung hat er mir freundlichst überlassen. Auch eine Bearbeitung der oben erwähnten Schneckenschalenpigmente ist beabsichtigt.

Die vorliegende Untersuchung zeigt nun, daß die in saurem Alkohol löslichen, durch die Pepsinspaltung der Rotalgen–Chromoproteide erhaltenen Stoffe Verbindungen von Gallenfarbstoffen oder mindestens ihnen nahe verwandten Pyrrolfarbstoffen mit Eiweißbruchstücken darstellen, die erst durch energische Spaltung mit konz. Säure von letzteren befreit werden können. Man erhält dann in Chloroform löslische, in Wasser bei neutraler Reaktion unlösliche Stoffe mit dem Verhalten der Gallenpigmente. Es ist dem-

[1]) Z. f. allg. Physiol. **3**, 91 (1903).

[2]) C. r. Soc. Biol. **99**, 492, 722 (1928).

[3]) O. v. Fürth, Vgl. Physiol. nied. Tiere, Jena, 1903, S. 528, lehnte eine Analogie des von Dor im Limax-Integument beobachteten „Urobilins" mit diesem allein seiner Wasserlöslichkeit wegen ab.

[4]) Zitate bei Dhéré, a. a. O.

[5]) M. Comas, C. r. Soc. Biol. **96**, 866 (1926).

[6]) M. v. Linden, Archiv f. Physiol. **98**, 1 (1903).

[7]) B. **11**, 606 (1878).

[8]) H. Fischer u. F. Lindner, H. **142**, 141 (1925); **145**, 206 (1925).

Digitized by Google

nach zu vermuten, daß es sich bei den angeführten Naturprodukten ebenfalls um Gallenfarbstoff-Abkömmlinge handelt. Eine Reihe von Tatsachen beweist übrigens auch das Vorkommen des Bilirubins[1]) in an Eiweiß oder Eiweißbruchstücke gebundener Form in Urin, Galle und Serum. Wenn Schultz eine solche Annahme für die Haliotis-Pigmente als unwahrscheinlich ablehnt, weil selbst Kochen mit verdünnten Säuren kein chloroformlösliches Pigment ergibt, so zeigt die vorliegende Arbeit, daß tatsächlich eine energischere Behandlung zur Spaltung notwendig ist.

Dieses zähe Haften an Eiweiß bedingt auch die besonderen Schwierigkeiten der Untersuchung, zumal es sich herausstellte, daß — ganz im Gegensatze zu den Chromoproteiden selbst — die freigewordenen Farbkomponenten Stoffe sind, deren Labilität die bekannte Veränderlichkeit der Gallenfarbstoffe noch zu übersteigen scheint. Ohne ausgedehnte Vorversuche, bei denen sich wieder die spektrophotometrische Methode bewährte, wäre eine Bearbeitung voraussichtlich erfolglos gewesen. Die Herstellung der Algen-chromoproteide in größerem Umfange, für die beträchtliche Mengen (20 kg) von Algen (japanisches „Nori") zur Verfügung standen, stößt zwar auf keine prinzipiellen Schwierigkeiten, die Trennung von Phycoerythrin und Phycocyan voneinander ist aber eine sehr langwierige Arbeit und liefert nur allmählich das Ausgangsmaterial nach, von dem dann die Farbkomponente ja wieder nur einen sehr kleinen Teil ausmacht. In zahlreichen Vorversuchen wurden daher mit geringen Substanzmengen die Wege zu einer Isolierung chloroformlöslicher Stoffe gesucht und gleichzeitig die durch die Behandlung erfolgenden Änderungen der Spektren genau beobachtet. Hierbei mußte sich erweisen, ob etwa die energische Behandlung wesentliche Änderungen im spektralen Charakter der Pigmente zur Folge hatte. Neben den Spektren der sauren wäßrigen Lösungen wurden zur Kontrolle auch die sehr charakte-

[1]) H. Fischer, H. **95**, 78 (1915); F. Reindel, H. **127**, 299 (1923); W. Küster, H. **47**, 298 (1906); **94**, 163 (1915); **95**, 45 (1915); R. Sivó u. E. Forrai, Bio. Z. **189**, 168 (1927).

Digitized by Google

ristischen Spektren der komplexen Zinksalze in schwach ammoniakalischer Lösung untersucht. Die Chromoproteide selbst geben zwar die Komplexsalze nicht, diese werden aber schon nach sehr milder Behandlung mit ganz verdünnten Säuren erhalten und bilden somit eine wichtige Eigenschaft der Farbkomponenten, aus deren Verbleib oder Verschwinden sich Schlüsse über das Eintreten weitergehender Veränderungen ziehen lassen. Zur Untersuchung kamen das *Phycoerythrin*, das *Phycocyan* aus *Nori* und das aus *Ceramium*. Das Nori–Phycocyan ist, wie sich herausstellte, mit dem Ceramium–Phycocyan nicht identisch.

Die Ergebnisse, über die im experimentellen Teil berichtet wird, zeigen, daß zwar Änderungen des Spektrums bei der Behandlung mit starker Salzsäure eintreten, daß aber keine erheblichen Konstitutionsänderungen der Farbkomponenten anzunehmen sind. Farbe, Fluorescenz und Hauptmaximum der komplexen Zinksalze bleiben unverändert. Das mit warmer konz. Salzsäure behandelte Nori–Phyocyan gab nun an Chloroform das weiter unten beschriebene Phycocyanobilin ab. „Phycobilin" hatte ich wegen seiner Urobilinreaktion das in der ersten Abhandlung geschilderte Produkt der Pepsinspaltung des Phycoerythrins genannt. Nachdem sich gezeigt hat, daß dieser Stoff noch nicht die freie Farbkomponente ist, möchte ich den Namen den letzteren vorbehalten und unterscheide ein *Phycocyanobilin* aus Phycocyan und ein *Phycoerythrobilin* aus Phycoerythrin.

Sehr eigenartig liegen die Verhältnisse beim Ceramium–Phycocyan. Spaltung mit warmer konz. Salzsäure liefert ein in Chloroform lösliches Phycocyanobilin, das mit dem aus Nori–Phycocyan im Absorptionsspektrum fast identisch ist, dagegen gibt Spaltung mit kalter konz. Säure einen Stoff mit ganz anderer Absorptionskurve, die in der Lage der Maxima völlig einem Gemisch von Phycocyano- und -erythrobilin gleicht. Das gleiche gilt für die Lage der Maxima des Zinkkomplexsalzes. Dennoch liegt in diesem in Chloroform unlöslichen Pigmente kein solches Gemisch vor, denn beim Erwärmen mit konz. Salzsäure unter Luftabschluß verschwindet das Band, das dem Phycoerythrobilin entspricht,

Digitized by Google

während dieses unter den Bedingungen des Versuchs völlig beständig ist. Es ist also möglich, daß dieselbe Farbkomponente in den beiden Phycocyanen nur in verschiedener Bindungsart vorliegt, oder aber daß die Farbkomponente des Ceramium–Phycocyans sich in der heißen Säure in die des Nori–Phycocyans umlagert. Auf jeden Fall besteht eine ganz nahe Verwandtschaft.

Das wichtigste Ergebnis der spektrophotometrischen Untersuchung brachte die Salzsäurespaltung des Phycoerythrins bei Zutritt von Luftsauerstoff. H. Kylin[1]) und Z. Kitasato[2]) hatten beobachtet, daß Pycoerythrin und sein rotviolettes Pepsin-Spaltprodukt beim Erwärmen in starker Salzsäure in ein blaues Pigment übergehen. Kitasato hat dessen Ähnlichkeit mit dem Spaltprodukt aus Phycocyan betont und aus dem weiter unten bestätigten Befund von Eiweißbruchstücken in der rotvioletten in Amylalkohol löslichen „Farbkomponente" des Phycoerythrins geschlossen, daß der blaue Stoff die eigentliche Farbkomponente des Phycoerythrins sei. Er hat jedoch übersehen, daß dieser Farbwechsel sich nur bei Gegenwart von Luftsauerstoff vollzieht, rasch in der Wärme, langsam auch bei Zimmertemperatur und zwar unabhängig von der Stärke der angewandten Salzsäure. Er ist noch rascher durch kurzes Erwärmen mit Ferrichlorid-Salzsäure[3]) zu erzielen und besteht in einer mehr oder weniger vollständigen Oxydation des Phycoerythrobilins zum Phycocyanobilin, wie aus der Absorptionskurve sowohl der sauren Lösung wie aus der der Zinkkomplexsalze bewiesen werden konnte. Die quantitative Auswertung der Kurven bei der Oxydation des Phycoerythrobilins ergab, daß in beiden Chromoproteiden Phycocyano- und -erythrobilin im äquivalenten Verhältnis zugegen sein müssen. Während Nori–Phycocyan eine stärkere Absorption besitzt als Phycoerythrin, absorbiert nach der Spaltung Phycoerythrobilin bedeutend stärker als das

---

[1]) H. 69, 169 (1910). [2]) Acta phytochimica II 2, 75 (1925).

[3]) Bei der Oxydation von Bilirubin wirkt Ferrichlorid nach W. Küster, H. 91, 58 (1914) nur als Sauerstoffüberträger.

Digitized by Google

-cyanobilin. Eine Darstellung des Phycocyanobilins auf diesem Wege stieß jedoch auf Schwierigkeiten.

Durch diese Untersuchung war auch der Weg gewiesen, der zur Isolierung der Farbstoffkomponente führen konnte: Spaltung mit warmer konz. Salzsäure unter peinlichem Luftausschluß bei einer Temperatur von 80—85°. Kochen mit konz. Salzsäure gibt, wie schon in der ersten Arbeit geschildert war, „melanin"ähnliche Kondensationsprodukte, die zunächst noch in Alkohol löslich sind, später dem „Bilihumin"[1]) ähneln, Produkte, wie sie auch von Zeyneck aus dem sicher mit den Algenpigmenten ganz nahe verwandten Crenilabrus-Blau[2]) erhalten hat. Sie sind durch eine Rotfärbung mit Salpetersäure charakterisiert, die als Rest der Gmelin-Reaktion aufzufassen ist. Die Bildung solcher „Melanoidin"-Vorstufen wurde übrigens, ganz ähnlich wie es R. A. Gortner[3]) beim Tryptophan fand, stets nur dann beobachtet, wenn noch Eiweißbestandteile zugegen waren. Die reinen Farbkomponenten schwärzen sich bei Kochen mit konz. Salzsäure nicht.

Der genannte Weg führte dann auch bei Nori-Phycocyan zum Ziele. Aus der sauren, intensiv blauen Lösung, die durch die Säurespaltung erhalten wird, läßt sich ein beträchtlicher Teil des Pigmentes in Chloroform aufnehmen, der nach seinem Gewicht nur 1,4 Proc. des Chromoproteids ausmacht. Nach Herauslösen aus der ätherischen Lösung mit $^n/_{10}$-Salzsäure und Aufnehmen in Chloroform scheiden sich beim Umkrystallisieren aus Chloroform-Benzol prismatische und tafelige tiefblaue Gebilde mit intensivem roten Oberflächenschimmer aus, die zuweilen schlecht ausgebildet waren, zuweilen aber deutlich krystallisiert schienen. Da die Untersuchung unter dem Polarisationsmikroskop infolge der zu tiefen Färbung nicht möglich war, wurde von einem Präparat, das allerdings schon einige Zeit aufbewahrt worden

[1]) W. Küster, H. 91, 58 (1914); 94, 170 (1915); Staedeler, A. 132, 323 (1864).

[2]) R. v. Zeyneck, M. 34, 535 (1913).

[3]) Am. Soc. 42, 632, 821 (1926) und vorhergehende Arbeiten; siehe auch O. Fürth u. F. R. Lieben, Bio. Z. 116, 227 (1921).

Digitized by Google

war und Spuren der Zersetzung zeigte, ein Debye-Scherrer-Diagramm aufgenommen, das keinen Hinweis auf Krystallstrukturen lieferte. Die Frage muß also vorerst noch offen bleiben, da mir kein unverändertes Material mehr zur Nachprüfung zur Verfügung stand. Die Analysen des Stoffes aus zwei verschiedenen Darstellungen stimmten gut überein. Aus ihnen errechnet sich die Formel $C_{34}H_{44}O_8N_4$, wobei natürlich vorläufig die Zahl der Kohlenstoff- und Wasserstoffatome ebensogut um eins größer oder kleiner sein kann, auch steht eine Molekulargewichtsbestimmung noch aus. Mit der angegebenen Formel stimmt der Methoxylgehalt des Esters, der nicht einwandfrei krystallisiert, überein. Es liegt in ihm wohl ein Gemisch zweier Formen vor.[1]) Die Veresterung erfolgt leicht, schon bei Zimmertemperatur mit 5-proc. methylalkoholischer Salzsäure. Die Analyse zeigt, daß 2 Methoxylgruppen vorhanden sind. 4 Sauerstoffatome sind also in 2 Carboxylgruppen enthalten, da die sauren Eigenschaften durch die Veresterung verschwunden sind. Daß jedenfalls keine Verunreinigung durch Bestandteile des Eiweißmoleküls mehr vorliegt, beweist neben den Löslichkeitsverhältnissen die sehr starke Färbung der Substanz (bei Annahme des Molekulargewichts der obigen Formel beträgt der log der Molextinktion 4,3) und der negative Ausfall der Aminostickstoff-Bestimmung nach van Slyke. Das Präparat enthält noch eine Spur Schwefel wie die meisten Gallenfarbstoffpräparate (Relikt von Eiweiß).[2]) In der wäßrigen Lösung, die nach der Extraktion mit Chloroform zurückbleibt, findet sich der Rest des Chromoproteid-Moleküls als typisches Eiweißhydrolysat.

Das Phycocyanobilin ist ein amphoterer Stoff, einerseits eine ziemlich starke Säure, die von Natriumbicarbonatlösung aus Chloroform aufgenommen wird und leicht zu verestern ist, andererseits eine schwächere Base, deren salzsaure Salze wie die des Bilicyanins[3]) und des Mesobilirubinesters[4])

[1]) Vgl. W. Küster, H. 141, 40 (1924).
[2]) Staedeler, a. a. O.; H. Fischer, H. 95, 78 (1915).
[3]) A. Heynsius u. F. F. Campbell, Pflügers Archiv 4, 497 (1871).
[4]) H. Fischer u. G. Niemann, H. 127, 317 (1923).

Digitized by Google

leicht dissoziieren. Es ist aus der ätherischen Lösung bereits mit dem gleichen Volumen $^{n}/_{10}$-Salzsäure fast völlig zu extrahieren, besitzt also eine Willstätter-Zahl kleiner als 0,4. Das Pigment ist in Äther ziemlich schwer löslich. Aus Chloroform wird es aber bei ähnlicher Lage des Gleichgewichts erst von etwa 15-proc. Salzsäure aufgenommen. Es spielen eben außer der Basizität des Stoffes hierbei auch die Löslichkeiten des undissoziierten Stoffes und besonders seines Salzes eine Rolle.[1]) Phycocyanobilin besitzt deutliche Indicatoreigenschaften, wie sie bei den Oxydationsprodukten des Bilirubins von W. Kerppola und E. Leikkola[2]) kürzlich untersucht wurden. Es bildet mit Zink- und Kupfersalzen sehr leicht Komplexsalze, so daß die von Willstätter bei der Untersuchung der magnesiumfreien Chlorophyllderivate angewandten Vorsichtsmaßregeln beachtet werden müssen, um eine Verunreinigung der Pigmente zu vermeiden. Die Komplexsalzbildung erfolgt aber nur in ammoniakalischer, neutraler oder höchstens schwach essigsaurer Lösung, gleicht also der der Gallenfarbstoffe und Dipyrrylmethene[3]), nicht der Porphyrine. Wie überall bei den komplexen Pyrrolderivaten zeichnen sich die Zinksalze durch besonders schöne Farbe und intensive Fluorescenz aus.[4]) Die Reindarstellung der Komplexsalze ist vorerst noch nicht gelungen. Daß es sich um Komplexsalze handelt, beweist außer der erheblichen Spektralverschiebung die Tatsache, daß sie auch aus den Estern erhalten werden und dann in Äther und Chloroform, nicht in alkalisch-wäßriger Lösung löslich sind. Sie zerfallen mit Mineralsäuren leicht wieder, besonders das Zinksalz, wobei aber das Phycocyanobilin nicht unverändert wiedererhalten wird. Eine weitere charakteristische Eigenschaft der Gallenfarb-

---

[1]) Eine ähnliche Erklärung ist wohl auch für die Tatsache, daß die Porphyrinester eine höhere Willstätter-Zahl besitzen als die Porphyrine, der Erklärung W. Küsters, H. 109, 125 (1920) vorzuziehen.

[2]) Skand. Arch. f. Physiol. 55, 70 (1928).

[3]) H. Fischer u. Mitarb., B. 56, 1202, 2319, 2379 (1923); 57, 616, (1924).

[4]) H. Langenecker, H. 115, 1 (1921).

Digitized by Google

stoffe ist ihre Labilität gegen Oxydantien und der bunte Farbenwechsel, der bei der Oxydation, aber auch infolge noch undurchsichtiger Umlagerungen, so mit Alkalien auch unter Luftabschluß, sich vollzieht und der trotz der gebotenen Farbenschönheit dem chemischen Bearbeiter wenig Freude macht. Er ist auch bei den Phycobilinen in ebenso reichem Maße vorhanden. So verwandelt sich Phycocyanobilin, rascher noch sein Ester, selbst unter Stickstoff allmählich in grüne, schwächer basische Stoffe. Gegen Salpetersäure verhält sich Phycocyanobilin wie Bilicyanin, d. h. es gibt den Rest der Gmelinreaktion über Blauviolett, Rotviolett, Rot nach Gelb.

Es bestehen, wie die folgende Tabelle (S. 204) zeigt, ganz nahe Analogien zu dem Bilicyanin einerseits, dem Mesobiliviolin andererseits. Das Phycocyanobilin ist sicher diesen Stoffen nahe verwandt, kaum mit einem von ihnen identisch. In ihren Eigenschaften bis auf die Löslichkeit ganz ähnlich sind ferner die oben erwähnten, von Schultz aus dem Gehäuse von Haliotis californiensis extrahierten Pigmente.

Bei der Gmelin-Oxydation von Phycocyanobilin kann man eine rote Phase erhalten, die in Absorption der sauren Lösung und Farbe, Fluorescenz und Absorption des komplexen Zinksalzes fast völlig mit dem Phycoerythrobilin übereinstimmt. Da das letztere aber bei Oxydation mit Ferrichlorid in saurer Lösung Phycocyanobilin liefert, kann dessen Oxydationsprodukt nicht mit Phycoerythrobilin identisch sein. Es liegt hier ein Fall vor, in dem das Wiederkehren des Urobilinspektrums[1]) in zwei verschiedenen Oxydationsstufen feststeht. Das Band 498 mμ im Mesobiliviolin wäre daher möglicherweise einer Verunreinigung mit einer „Urobilin"- bzw. „Choletelin"-Komponente durch unvollständige oder zu weit gegangene Oxydation zuzuschreiben. Die Erfahrungen bei der Oxydation des Phycoerythrobilins

[1]) Dem entsprechen bei Bilirubin die alten Beobachtungen von Stokvis, Zentralbl. f. d. mediz. Wiss. 10, 785 (1872); 11, 211, 488 (1873) völlig, die auch H. K. Barrenscheen u. O. Weltmann, Bio. Z. 140, 273 (1923) im wesentlichen bestätigt haben.

Digitized by Google

	Phycocyanobilin	Bilicyanin[1][2]	Mesobiliviolin[3]
Entstehung des Pigments	Aus Phycerythrobilin mit $FeCl_3$ und Luftsauerstoff in saurer Lösung; aus Phycocyan	Aus Bilirubin mit HNO_3[1]) oder Jod[2]); in Gallensteinen	Aus Mesobilirubinogen mit $FeCl_3$, aus Mesobilirubin d. Luftsauerstoff in saurer Lösung
Farbe der sauren Lösung	blau	blau	blauviolett
Spektrum der sauren Lösung	606 in Chloroform 598 in Salzsäure	598 in verdünnter Schwefelsäure	**606**, 560, 498 in Chloroform
Farbe der alkalischen Lösung	violett	violett	gelb
Löslichkeit	+: Chloroform, Alkohol ÷: Wasser, Benzol, Ligroin	+: Chloroform, Alkohol ÷: Wasser	+: Chloroform, Alkohol ÷: Wasser, Benzol, Ligroin
Analyse	$C_{31}H_{44}N_4O_8$	$C_{33}H_{36}N_4O_6$	$C_{33}H_{40}N_4O_8$
Zinksalz: Farbe	grünblau	grünblau	
Fluorescenz	rot	rot	grün
Spektrum	632, 585	642, 586[2]) 639, 584, 509[1])	626, 574, 508[4])
Oxydation	Gmelin + in Alkali grün	Gmelin +	in Alkali grün

lassen eine solche Beimengung ebenfalls glaubhaft erscheinen. Das Bilicyanin nach Fischer zeigt dieses Band auch, nicht aber das durch vorsichtige Oxydation von Bilirubin mit Jod erhaltene Bilicyanin Barrenscheens. Das weiter

[1]) H. Fischer u. Mitarb., H. 150, 44 (1925). Bei Heynsius u. Campbell, Pflügers Archiv 4, 497 (1871) sind die Zinkstreifen (irrtümlich?) weiter im Rot beobachtet worden.

[2]) H. K. Barrenscheen u. O. Weltmann, Bio. Z. 140, 273 (1923).

[3]) H. Fischer u. G. Niemann, H. 127, 317 (1923); 137, 293 (1924).

[4]) Die von H. Fischer u. G. Niemann, H. 146, 196 (1925) für das (oxydierte) Mesobilirubin-Kupfer angegebenen Banden: 635 und 580 mμ wären nach ihrer Lage ebenfalls dem Mesobiliviolin zuzuschreiben.

Digitized by Google

oben behandelte Verhalten des Ceramium-Phycocyans läßt es freilich auch möglich erscheinen, daß ein solches Spektrum doch von *einer* Substanz gegeben wird. Man müßte dann annehmen, daß in der betreffenden Verbindung die beiden („Bilicyanin"- und „Urobilin"-)Absorptionszentren in einem Moleküle vereinigt sind. Es bleiben auch die Abweichungen im Maximum der sehr charakteristischen scharfen Zinkbande, die eine Verschiedenheit der drei Pigmente beweisen. Da die Kurve nach beiden Seiten vom Maximum ziemlich steil abfällt, dürfte auch der Unterschied, der aus der Anwendung verschiedener Methoden (spektrographische bei H. Fischer und Barrenscheen, spektralphotometrische bei mir) resultiert, kaum ins Gewicht fallen; in diesem Gebiete würde auch eine „Urobilin"-Beimengung keine Verschiebung verursachen, da das letztere hier fast gar nicht absorbiert.

Versucht man *Phycoerythrin* auf dem beim Phycocyan angewandten Wege zu spalten, so stellt sich eine doppelte Schwierigkeit dem entgegen, die Schwerlöslichkeit des Chromoproteids in der konzentrierten Säure und die anscheinend geringere Chloroform-Löslichkeit der Farbkomponente. Es gelingt jedenfalls so nur einen kleinen Teil des Pigments in Chloroform zu bringen. Amylalkohol nimmt zwar nun sofort das ganze Pigment auf und dieses verteilt sich beim Waschen nicht zwischen Amylalkohol und Wasser wie das unten beschriebene Produkt der Pepsinspaltung, aber Amylalkohol ist aus mehreren Gründen kein geeignetes Lösungsmittel. Es wurde daher die Alkoholyse mit methylalkoholischer Salzsäure anzuwenden versucht. Diese liefert unter Zurücklassen eines erheblichen ungelösten Eiweißrückstandes einen wesentlichen Teil des Pigments als chloroform-löslichen Methylester, aber ebenfalls nicht rein. Darauf deuten die Analysen, die spezifischen Extinktionen, die niedriger sind als beim Phycocyanobilin, aber höher sein sollten (vgl. S. 199)[1]) und der positive Ausfall der Bestimmung des Aminostick-

[1]) Sie sind auch niedriger als die von D. Charnas, Bio. Z. 20, 401 (1909) für die reinsten Urobilin-Präparate ermittelten Werte.

Digitized by Google

stoffs nach van Slyke.[1]) Immerhin nähern sich doch die Analysenwerte merklich denen des Phycocyanobilins.

Der Phycoerythrobilin-methylester gleicht in jeder Hinsicht dem „Urobilin". Auch die Lage der Maxima und die Verschiebung bei der Zinkkomplexsalzbildung entspricht völlig den von L. Lewin und E. Stänger[2]) für „Urobilin" gefundenen (495 mμ, 510 mμ). Die Verschiebung des Hauptmaximums bei der Komplexsalzbildung ist weit geringer als beim Phycocyanobilin. Die Komplexsalze bilden sich und zerfallen unter den gleichen Bedingungen wie beim Phycocyanobilin. Die Gmelin-Reaktion ist negativ. Das Phycoerythrobilin zersetzt sich sehr leicht, so wird es durch Einwirkung des Luftsauerstoffs auf die saure Lösung zu Cyanobilin oxydiert. Aber auch unter Luftausschluß verändert sich der Stoff, ohne daß die Ursachen zu ermitteln sind. Mit Salzsäure bildet der Ester wie das Phycocyanobilin leicht hydrolysierende Salze; während nun der unveränderte Stoff schon mit $^n/_{10}$-Salzsäure aus einer Ätherlösung mit rotvioletter Farbe herausgelöst wird, bleiben nach längerem Aufbewahren stets noch braune Anteile im Äther, die auch nicht in 10-proc. Salzsäure hineingehen. Zuweilen wurde auch in saurer Lösung eine Umfärbung nach Blau unter Auftreten eines Stoffes mit anderen charakteristischen Spektralerscheinungen beobachtet. Es gelang infolge dieser Labilität des Stoffes daher nicht, ihn zu reinigen. Nach der Abtrennung eines in Benzol unlöslichen Anteils war der Rest im oben geschilderten Sinne verändert; die Analyse ergab nun zwar den für zwei Carboxymethyle zu erwartenden Methoxylwert, aber der Kohlenstoffgehalt war gesunken. Eine Krystallisation war nicht zu erreichen.

Es scheint bei der weitgehenden Ähnlichkeit mit „Urobilin" nicht zu gewagt, aus den Erfahrungen bei der Bearbeitung des Phycoerythrobilins auch Schlüsse für die Chemie des ersteren zu ziehen. Bei

---

[1]) W. Küster u. G. Fr. Koppenhöfer haben bei der Alkoholyse des Hämins ebenfalls Produkte unvollständigen Abbaus erhalten. H. 170, 106 (1927).

[2]) Pflügers Archiv 144, 279 (1912).

Digitized by Google

dem Rotstreifen, den Mesobilirubinogen nach H. Fischer[1]) mit alkalischer Kupferlösung gibt, und den Rotorangestreifen bei Zinksalzen anoxydierter „Urobilinprüparate"[2]), handelt es sich wohl um eine ähnliche Oxydation, die noch über die Urobilinstufe hinausführt. Außer der Labilität des Stoffes, die es bedingt, daß ein einheitliches Urobilin überhaupt nicht erhalten werden kann, bildet eine bisher nicht erkannte Quelle von Unklarheiten in der Urobilinchemie eine unbeabsichtigte Komplexsalzbildung. Diese tritt bereits mit Metallspuren so leicht ein, daß besondere Vorsichtsmaßregeln dazu gehören, eine neutrale, unveränderte Lösung des Phycoerythrobilins zu erhalten. In den üblichen Spektralphotometer-Röhren mit Messing oder Kupferverschraubungen erfolgt sehr rasch ein Farbumschlag unter Komplexsalzbildung, wie er aufmerksamen Beobachtern auch nicht entgangen ist[3]), ohne daß sie die Ursache angeben konnten. Das Eintreten und Ausbleiben dieser Reaktion, je nach zufälligem Fehlen oder Vorhandensein genügender Zink-[4]) oder Kupferspuren hat eine Fülle widersprechender Befunde verursacht, so die Unklarheiten über das „alkalische" Urobilinspektrum[5]) und über die Unterschiede von „normalem" und „febrilem Urobilin".[6]) Ohne Zinkgehalt grün fluorescierende Lösungen sind mir nur bei den Endstufen der Gmelin-Reaktion (hier auch in saurer Lösung blaugrüne Fluorescenz) begegnet.

Die leichte Veresterbarkeit des Urobilins ist bei manchen Darstellungsmethoden nicht beachtet worden, oft auch nicht die große Labilität, insbesondere dem Luftsauerstoff gegenüber.

Daß die Urobilin-Reaktion eine Gruppenreaktion ist hat H. Fischer gezeigt[7]), ebenso daß das Harn-Urobilin kein chemisches Individuum ist. Aber es scheint mir möglich, vom ausgezeichnet definierten Phycoerythrin aus *ein* defi-

---

[1]) H. Fischer u. P. Meyer, H. 75, 339 (1911); u. F. Röse, H. 82, 391 (1912).

[2]) Vgl. d. Zusammenstellg. in Kaysers Handbuch der Spektroskopie, 4, 164—172 (1908) u. Fr. Meyer-Betz, Ergebn. d. inn. Mediz. u. Kinderheilkd. 12, 733 (1913).

[3]) Vgl. z. B. Formáneks Beobachtung bei Pröscher, H. 31, 520 (1900/01), auch A. E. Garrod u. F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 20, 112 (1896).

[4]) R. E. Lutz, Journ. Ind. Hyg. 7, 273 (1925) hat eine Mikro-Zinkbestimmung mit Urobilin vorgeschlagen.

[5]) D. Charnas, Bio. Z. 20, 401 (1909), stellte die Unabhängigkeit des „alkalischen" Spektrums von der Reaktion bereits fest.

[6]) Mac Munn, Proc. Roy. Soc. B. 31, 206 (1881). A. E. Garrod u. F. G. Hopkins, a. a. O., u. a.

[7]) H. 75, 232 (1911).

Digitized by Google

niertes Urobilin zu fassen, wenn der Versuch auch vorerst noch nicht geglückt ist. Jedenfalls muß es leichter sein, auf diesem Wege zu einem Resultate zu gelangen, als eine unter teilweiser Verharzung verlaufende Oxydation wie die des Mesobilirubinogens irgendwo abzustoppen. Den Eindruck einer solchen „Pyrrolschmiere" macht das Phycoerythrobilin jedenfalls nicht. Bemerkenswert ist, daß die Oxydation mit Salpetersäure beim Phycoerythrobilin andere Wege führt wie die mit Eisenchlorid. Es wäre in diesem Zusammenhange interessant, zu sehen, ob die Eisenchlorid-Oxydation wie aus Mesobilirubinogen, so auch aus Urobilin Mesobiliviolin liefert. Denn *das* Urobilin, das zunächst aus Mesobilirubinogen entsteht und das rückwärts in dieses zu verwandeln ist, dürfte dem Phycoerythrobilin parallel stehen wie das Mesobiliviolin dem Phycocyanobilin. Eine chemische Deutung für diese komplizierten Verhältnisse zu geben, scheint mir bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse gerade dieser Gallenfarbstoffgruppen noch nicht möglich.

Trotz der vielen und deutlichen Hinweise auf eine Verwandtschaft mit den Gallenfarbstoffen fehlte jedoch noch ein Nachweis der Pyrrolkerne. Z. Kitasato[1]) hat vergeblich versucht, durch Reduktion seiner „blauen Farbkomponente" mit Jodwasserstoff–Eisessig Pyrrolkörper zu erhalten. Gründe des Mißlingens mögen zum Teil die noch starke Verunreinigung der an sich schon sicher nicht erheblichen Menge des Ausgangsmaterials mit anderen Begleitstoffen gewesen sein, vielleicht war auch die Reduktionsdauer zu kurz — Gallenfarbstoffe sind sehr schwer total zu reduzieren[2]) —, der Hauptgrund ist jedoch wohl das Unterlassen der Untersuchung der Säurefraktion. Die Ausbeuten an der Basenfraktion sind bei der reduktiven Spaltung der Gallenfarbstoffe relativ gering und sie entging auch hier zunächst der Beobachtung.[3]) Ich erhielt bereits bei den vorläufig nur mit geringen Mengen als Vorversuche an-

[1]) Acta phytochimica II 2, 90 (1925).
[2]) H. Fischer u. H. Röse, B. 45, 1579 (1912).
[3]) Dieselben, B. 45, 3274 (1912).

Digitized by Google

gestellten Reduktionen ein positives Resultat. Nach Reduktion des Phycocyanobilins in Jodwasserstoff–Eisessig lassen sich aus dem alkalisch gemachten Rückstande geringe Mengen von Pyrrolbasen mit Wasserdampf übertreiben. Das Destillat gibt schwache, aber deutlich positive Ehrlich-Reaktion. Weit stärker als in der Basenfraktion ist diese in der zurückbleibenden Säurefraktion, die sich in zwei Fraktionen trennen läßt, deren eine stark positive, deren andere keine Ehrlich-Reaktion gibt, also etwa der Bilirubinsäure entspricht. Es gelang aber vorläufig nicht, aus der sehr geringen Menge Bilirubinsäure zu isolieren. Die partielle Aufspaltung zu Bilirubinsäure wie die Untersuchung, ob nur Kryptopyrrol und Kryptopyrrolcarbonsäure vorliegen oder auch andere Pyrrolbasen und -säuren muß einer weiteren Untersuchung mit größeren Materialmengen vorbehalten bleiben.

Die Reduktion von Phycocyanobilin mit Natriumamalgam in einer Stickstoffatmosphäre verläuft ebenfalls sehr langsam.[1]) Die nach 20 stündigen Schütteln erhaltene Lösung gibt intensive Ehrlich-Reaktion. Das daraus isolierte, in minimaler Menge und noch nicht rein erhaltene Chromogen oxydierte sich an der Luft wie Mesobilirubinogen zu einer Substanz, die alle Urobilinreaktionen gab. Die Versuche werden mit größeren Materialmengen fortgesetzt werden. Das Phycocyanobilin ist leider in größerer Menge sehr schwer zu erhalten, da Phycocyan nur etwa $^1/_4$ der Gesamtpigmente von Nori ausmacht; die bisher nicht gelungene Isolierung des Phycoerythrobilins wäre deshalb sehr wesentlich.

Wieweit diese Verwandtschaft mit den Gallenfarbstoffen im einzelnen geht, wird die weitere Untersuchung, mit der ich beschäftigt bin, zu zeigen haben. Die spektralphotometrische Methode unter Heranziehung der Spektren der Komplexsalze dürfte meiner Ansicht nach auch bei der Untersuchung der Oxydationsprodukte des Bilirubins, wie sie z. B. in der Gmelin-Reaktion auftreten, wegweisende Dienste leisten. Es ist schon mehrfach, so von Schultz

[1]) Ebenso wie die Reduktion des Urobilins: D. Charnas, a. a. O.

Digitized by Google

(a. a. O.) darauf hingewiesen worden, daß einige dieser Oxydationsprodukte wie Bilicyanin, Choletelin charakteristische Absorptionsbanden zeigen. Ein Versuch, diese Stoffe zu isolieren, wird jedenfalls fruchtbarer sein, als jedes Gemisch mit besonderem Farbton mit einem eigenen Namen zu belegen.[1]) Die Urobilin-, Bilicyanin- und Choletelin-Pigmente bilden eine besondere Gruppe der Gallenpigmente, die sich deutlich von der Bilirubin–Mesobilirubingruppe (keine selektive Absorption im sichtbaren Licht, andere Verhältnisse bei der Komplexsalzbildung)[2]) und der Biliverdingruppe unterscheidet.

Ein Porphyrinspektrum oder ein komplizierteres Spektrum von der Art der magnesiumfreien Chlorophyllderivate wurde während der ganzen Untersuchung nicht beobachtet, eine Komplexsalzbildung in Eisessig tritt nicht ein, die Phycobiline fluorescieren in saurer Lösung nicht. Mit irgendwelchen Chlorophyllderivaten, Chlorinen, Rhodinen und Verdinen[3]) besteht keine Ähnlichkeit. Für die Anwesenheit von Phytol, das bei der Behandlung abgespalten werden würde, ergeben sich keine Hinweise.

Nachdem nun die Farbstoffkomponenten und ihre Eigenschaften bekannt sind, lassen sich die Verhältnisse bei der *Pepsinspaltung* leichter übersehen. Es ist dabei zu bedenken, daß sie durchgeführt wurde, bevor die Luftempfindlichkeit der Pigmente erkannt war. Die Pepsinspaltung liefert einen auffallend hohen Prozentsatz in Alkohol bei schwach saurer Reaktion löslicher Peptone, das „Phycobilin A" der ersten Mitteilung. Mit Amylalkohol ist aus der wäßrigen schwach salzsauren Lösung nur ein Teil des Pigments zu extrahieren. Der nur in Wasser lösliche und der in Amylalkohol übergehende, sich zwischen Amylalkohol und Wasser verteilende Anteil zeigen gleiche Farbe und fast gleiches Absorptions-

[1]) Vgl. W. Kerppola u. E. Leikkola, Skand. Arch. 55, 70 (1928).

[2]) Die Frage der Komplexsalzbildung des Bilirubins und Mesobilirubins ist noch nicht völlig geklärt. Mit Zink erfolgt keine Komplexsalzbildung [H. Fischer, Z. f. Biol. 65, 103 (1915)], anscheinend aber mit Kupfer, vielleicht jedoch erst nach einer Oxydation, vgl. aber W. Küster, H. 149, 30 (1925).

[3]) H. Fischer, A. Treibs u. H. Helberger, A. 466, 243 (1928).

Digitized by Google

spektrum und geben beide bereits die Zinkreaktion. Auch der in Amylalkohol lösliche Anteil, die „rotviolette Farbkomponente“ Kylins, enthält noch Eiweißbruchstücke, wie Kitasato bereits gezeigt hat. Er gleicht in seinen Löslichkeitsverhältnissen den oben erwähnten Naturprodukten. Da das nach der Spaltung mit heißer Salzsäure völlig in Amylalkohol gehende Pigment blau gefärbt war und eine dem blauen Pepsinspaltprodukte des Phycocyans ähnliche Absorptionskurve zeigte, zog Kitasato den Schluß, daß dieses die eigentliche Farbkomponente auch des Phycoerythrins sei und daß das Phycoerythrin ein kompliziertes Produkt: blaue Farbstoffkomponente + „Aminokörper“ + Eiweiß sei, das der Zwischenlagerung des Aminokörpers seine andere Farbe verdanke. Wie oben schon auseinandergesetzt, ist ihm die Einwirkung des Luftsauerstoffs bei der Umfärbung des Phycoerythrin-Spaltproduktes entgangen. Ferner gibt das Phycocyan, wie auch Kylin schon feststellte, bei der Pepsinspaltung ebenso wie Phycoerythrin Zwischenprodukte, die sich zwischen Amylalkohol und Wasser verteilen und die Aminostickstoff enthalten. Die abgestuften Löslichkeitsverhältnisse der bei der Pepsin- und Säurespaltung erhaltenen Pigmente: 1. Nur wasserlöslich, 2. wasser- und amylalkohollöslich, zwischen beiden Lösungsmitteln verteilbar, mit Äther aus Amylalkohol gefällt, 3. in Amylalkohol löslich, nicht mit Wasser daraus extrahierbar (nicht etwa schon veresterte Produkte), nicht mit Äther aus Amylalkohol fällbar, in Chloroform unlöslich, 4. in Chloroform und Äther, wenn auch schwer löslich (freie Farbstoffkomponente) — zeigen, daß in 1.—3. Stoffe vorliegen, in denen die Farbkomponente noch an einen größeren oder kleineren Polypeptidrest gebunden[1]) ist. Diese Annahme schließt nicht aus, daß in diesen Produkten auch noch ungefärbte Eiweißbruchstücke als Verunreinigungen enthalten sind. Welcher Art die Bindung der Farbkomponenten an die Eiweißbestandteile

[1]) Kitasato findet im Gegensatz zu meinen Beobachtungen in der in Amylalkohol löslichen „blauen Farbkomponente“ keinen Aminostickstoff, aber der viel zu hohe Stickstoffgehalt (12,0 Proc. gegen 8,9 Proc. meines Esters) läßt schon auf Eiweißbeimengungen schließen.

Digitized by Google

ist, läßt sich noch nicht sagen. Die Festigkeit der Bindung läßt eher an eine strukturchemische Bindung (etwa eine Peptidbindung der Carboxylgruppen der Farbstoffkomponente an Aminogruppen des Eiweiß) denken. Eine solche hat auch von Zeyneck für das Crenilabrus-Blau, bei dem die Verhältnisse ganz parallel liegen, diskutiert. In Frage käme noch eine Molekülbindung, wie sie W. Küster[1]) zwischen Bilirubin und Aminosäuren beobachtet hat, oder eine salzartige Bindung. Die Bindung des Bilirubins an Eiweißkolloide des Serums, die R. Sivó und E. Forrai[2]) beobachtet haben, ist jedenfalls leichter aufzuspalten als die der Chromoproteide. Die Verhältnisse liegen also ganz anders wie beim Hämoglobin, bei dem schon bei milder Einwirkung von Säuren die Farbkomponente abgespalten wird. Aber freilich hat hier H. Waelsch[3]) gezeigt, daß bei der Alkalispaltung eisenärmere Hämatine entstehen, in denen noch Prolin und Alanin enthalten sind, während bei Phycoerythrin und Phycocyan gerade milde Behandlung mit Alkalien leichte Abspaltung der Farbkomponente aus den Chromoproteiden bewirkt, bei der jedoch die Farbkomponente infolge der bei Gallenfarbstoffen bekannten Labilität gegen Alkali[4]) in grüne Pigmente verwandelt wird. Es ist mir übrigens nicht gelungen, so zu der Eiweißkomponente zu gelangen, die Kitasato untersucht hat. Es wird noch weiterer Versuche bedürfen, um eine endgültige Klärung der Frage herbeizuführen, die ja auch beim Hämoglobin noch aussteht.[5]) Wahrscheinlich sind an der Bindung der Farbkomponente im Chromoproteid auch die Pyrrol-Iminogruppen irgendwie beteiligt, da die Chromoproteide die Zinkreaktion nicht geben; sicher aber ist diese Bindung nicht die einzige, denn die Zinkreaktion taucht ja schon bei milder Behandlung mit Säuren auf.

[1]) W. Küster, H. 141, 40 (1924).
[2]) a. a. O. [3]) H. 168, 188 (1927).
[4]) W. Küster, H. 59, 63 (1909) u. a.
[5]) Am wahrscheinlichsten ist hier koordinative Bindung des Globins an das Eisen, vgl. F. Haurowitz, H. 182, 82 (1929) (dort auch d. and. Lit.) und R. Hill, Proc. Roy. Soc. London B, 100, 419 (1926). Die von R. Hill u. F. Holden beobachtete Bindung von Porphyrinen an Globin, Bio. Journ. 20, 1326 (1926), ist nach Haurowitz nicht anzunehmen.

Digitized by Google

Das *Phycocyan* aus *Nori* unterscheidet sich von dem in der ersten Abhandlung genauer untersuchten Phycocyan aus Ceramium durch das Fehlen der zweiten schwächeren Bande und seine größere Löslichkeit und kommt in zwei ineinander überführbaren Formen vor, von denen eine dem Ceramium-Phycocyan ähnelt und zunächst mit ihm verwechselt wurde. Das Chromoproteid ist wahrscheinlich mit dem „grünblauen Phycocyan" H. Kylins[1]) aus Batrachospermum und dem von K. Boresch[2]) aus Cyanophyceen erhaltenen identisch. Welches Pigment Kitasato in Händen hatte, ist schwer zu sagen, wahrscheinlich ebenfalls das „blaugrüne". Dafür sprechen Löslichkeit, Krystallform und die Abbildung des Absorptionsspektrums auf Tafel 8, Fig. 3.[3]) Allerdings ist in der Gegend des zweiten Maximums des Ceramium-Phycocyanins in Fig. 1 ein schwacher Schatten wahrnehmbar. Vielleicht lag also ein Gemisch von Nori- und Ceramium-Phycocyan vor.

Nach den Ergebnissen der Elementaranalyse der Chromoproteide und der Gleichheit der Stickstoffverteilung (von Kitasato nach der van Slyke-Methode bestimmt), wäre auf die gleiche Eiweißkomponente in Phycoerythrin und Phycocyan zu schließen. Dafür, daß sie in ihrer Molekelgröße (genauer in der Größe des mit einem Molekül der Farbkomponente verbundenen Eiweißrestes) gleich oder sehr ähnlich sind, sprechen die Ergebnisse der spektrophotometrischen Untersuchung der oxydativen Spaltung des Phycoerythrins. Daß aber eine Identität nicht anzunehmen ist, beweist die Tatsache, daß Phycocyan erheblich leichter denaturierbar ist als Phycoerythrin. Die Chromoproteide lassen sich nach ihrem kolloidchemischen Verhalten etwa den Pflanzenglobulinen zuordnen, sind aber relativ leicht koagulierbar und sehr leicht aussalzbar; sie sind auch in schwach salzhaltiger Lösung am isoelektrischen Punkt (bei Phycoerythrin 4,2—4,4 p_H) fällbar und in verdünnter Neutralsalzlösung nach Ausfällen durch Dialyse unlöslich, aber löslich in

[1]) H. 76, 396 (1912). [2]) Bio. Z. 119, 167 (1921).
[3]) Acta phytochimica II 2 (1925).

Digitized by Google

Spuren von Alkali. Sie ähneln also hierin den Glutelinen Osbornes.[1])

Auffallend ist die im Verhältnis zu den metallsalzfreien Farbkomponenten ungleich stärkere Fluorescenz der Chromoproteide. Eine nochmalige Überprüfung des Metallgehalts nach länger fortgesetzter Dialyse durch Veraschung hat eine noch geringere Menge von Asche (Calciumsulfat) ergeben, als damals gefunden wurde. Daß die Stärke der Fluorescenz der Chromoproteide mit dem kolloiden Verteilungszustand zusammenhängt, wurde bereits in der ersten Abhandlung belegt; ein analoger Fall ist die starke Fluorescenz des Bilirubins und Mesobilirubins in kolloider Lösung mit Taurocholsäure.[2]) Während die Chromoproteide selbst gegen Luftsauerstoff im Dunkeln und im schwach diffusen Licht recht beständige Körper sind, sind die Spaltprodukte, besonders die freien Farbkomponenten gegen Luftsauerstoff und Licht[3]) sehr empfindlich; der kolloide Träger übt also hier eine Schutzwirkung aus, wie sie Sivó und Forrai (a. a. O.) auch bei dem an die Serumproteine gebundenen Bilirubin beobachteten und wie sie ja aus der Enzymchemie bekannt ist.

Woher stammen diese eigenartigen Pigmente nun? Am nächstliegenden scheint mir die Umbildung des Chlorophylls oder die Entstehung aus einer unbekannten Vorstufe des Chlorophylls. Die bisherigen Beweise für ein Entstehen von Gallenfarbstoffen aus Chlorophyll sind allerdings sämtlich unzulänglich, da die Möglichkeit eines Abbaus bis zu den Pyrrolen und die Bildung des „Urobilins" durch deren Reoxydation nicht ausgeschlossen wurde. J. B. Conant und I. F. Hyde[4]) haben nun in einer mir im Original noch nicht vorliegenden Arbeit die Darstellung eines Gallenfarbstoffes durch Reoxydation eines durch katalytische Hydrierung von Phytorhodin g in Eisessig dargestellten Chromogens beschrieben, während Phytochlorine und die Phaeophorbide

[1]) T. B. Osborne, Ergebn. d. Physiol. **10**, 62 (1910).

[2]) H. Fischer u. G. Niemann, H. **127**, 317 (1923).

[3]) Über die Lichtempfindlichkeit von Bilirubin siehe W. Kerppola u. E. Leikkola, Skand. Arch. f. Physiol. **55**, 76 (1928).

[4]) C. 1929, II, 1928.

Digitized by Google

Porphyrinogene liefern. Eine Schwierigkeit in der Ableitung aus Chlorophyll würde das Vorhandensein eines Furan-Ringes bedeuten, der parallel zu den Gallenfarbstoffen[1]) anzunehmen wäre, da die Pigmente selbst mit p-Dimethyl-aminobenzaldehyd und Diazobenzolsulfosäure nicht reagieren. Ein solcher Ring ließe sich aus den gesättigten Seitenketten des Chlorophylls schlecht ableiten. Es muß aber der weiteren Untersuchung der Farbkomponenten vorbehalten bleiben, diese Frage zu entscheiden. H. Fischer sprach kürzlich die Vermutung aus[2]), daß die Algen-Chromoproteide eine frühere Entwicklungsstufe des Chlorophylls auf dem Wege vom Koproporphyrin zum Chlorophyll darstellen. Diese Annahme bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung nicht. Es ist übrigens auch in den Cyanophyceen Chlorophyll schon vorhanden und Träger der Assimilation, den Algen-Chromoproteiden fällt wohl nur die Rolle von Hilfssensibilatoren zu. Dagegen scheint mir eine Bildung aus den Zellbäminen durchaus diskutabel zu sein, die die oben angedeutete Schwierigkeit umgehen würde.

Die bekannte Variabilität und Labilität der Gallenfarbstoffe macht sie für die Umwandlungen geeignet, die in einigen Algen als komplementäre chromatische Adaptation beobachtet sind. Das Verhältnis, in dem Phycocyano- und -erythrobilin zueinander stehen, macht die Mitwirkung photooxydativer Prozesse hierbei wahrscheinlich. Auch die Bindung der Pigmente an Eiweiß erhält einen Sinn als Schutz gegen die allzu große Angreifbarkeit der Pigmente, z. B. durch den Sauerstoff. Sie werden so festgelegt, sind aber doch, vielleicht durch spezifische Enzyme, wieder mobilisierbar, deren Vorhandensein oder Fehlen erklären könnte, daß die Adaptationsfähigkeit nur bei einigen Algenarten vorhanden ist. Ein Beweis für diese Hypothese wäre freilich noch zu erbringen.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, die diese Arbeit durch Gewährung eines Forschungsstipendiums und eines Kredites unterstützte, sei auch an dieser Stelle bestens gedankt.

---

[1]) H. Fischer u. A. Hahn, H. 91, 175 (1924).
[2]) A. 475, 252 (1929).

Digitized by Google

Experimenteller Teil.

Nori–Phycocyan.

Die Darstellung des Pigments wurde in der ersten Arbeit geschildert. Die Trennung der Noripigmente durch fraktionierte Lösung gelingt ebenfalls, wenn man die bedeutend größere Löslichkeit des Nori–Phycocyans benutzt und zunächst sehr kleine Wassermengen zur Lösung des Gemisches anwendet; es bleibt hier das Phycoerythrin im Rückstand sofort fast frei von Phycocyan. Aus den Rohlösungen scheidet sich das Phycocyan in Gestalt flacher Nadeln (vgl. Tafel, Fig. 1) ab, die oft eigenartige gesetzmäßig verwachsene Aggregate (vgl. Tafel, Fig. 2) bilden. Sie gehen bei mehrfachem fraktionierten Umfällen mit Ammonsulfat in derbere prismatische bis rhombenförmige Krystalle über (Tafel, Fig. 3). Die letzteren weichen jedoch vom Ceramium–Phycocyan (Tafel, Fig. 5) in der Löslichkeit, Absorption und Krystallform ab. Nori–Phycocyan ist leichter, Ceramium–Phycocyan schwerer löslich als Phycoerythrin. Ersteres besitzt nur ein Maximum bei 613 mμ, letzteres daneben noch ein geringeres bei 550 mμ. Die Nadel- und Rhombenform des Noripigments unterscheiden sich in Absorption der Lösung und in der Löslichkeit nicht voneinander. Sie gehen beim Umfällen mit Ammonsulfat wechselseitig ineinander über, indem die Rhombenform sich aus Lösungen geringerer (bis etwa 10 Proc. der Sättigung), die Nadelform aus solchen größerer Konzentration an Ammonsulfat ausscheidet. Es treten auch gesetzmäßige Verwachsungen der Nadeln und Rhomben auf (Tafel, Fig. 4).

Herrn Prof. Erdmannsdörfer bin ich für die folgende krystallographische Untersuchung zu Dank verpflichtet:

I. Nori–Phycocyan.

„*Farbe der Krystalle* (nach Ostwald): etwa *pc*, U-blau *14.*“

Form und Optik: a) *Prismen- und Nadelform.* Rechtwinklige Tafeln, nicht selten dünnadlige Krystalle nach γ' gestreckt. Bisweilen sind dünne Nadeln in „gestrickten Aggregaten“ unter 60° miteinander verwachsen. Auslöschung gerade:

α' violettrot (Ostwald *ic*, Veil 11),
γ' tiefblau (Ostwald *pc*, Veil 11).

Doppelbrechung schwach.

Äußerst dünne Nadeln zeigen hellblaue Farbe (*ic*, Eisblau 16) und keinen Pleochroismus.[1])

Es ist fraglich, ob die gleiche Substanz vorliegt.

---

[1]) Nach meinen Beobachtungen ist Pleochroismus auch bei der Prismen- und Rhombenform von Nori–Phycocyan nur zuweilen wahrnehmbar und stets viel schwächer als beim Ceramium–Phycocyan.
Der Verf.

Digitized by Google

Rudolf Lemberg.

Chromoproteide der Rotalgen. II.

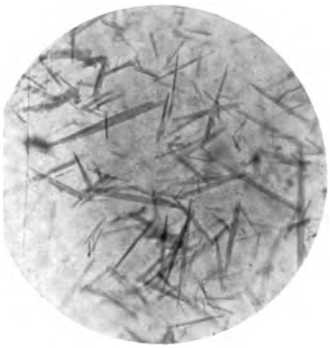


Fig. 1.
Nori-Phycocyan, Nadelform.

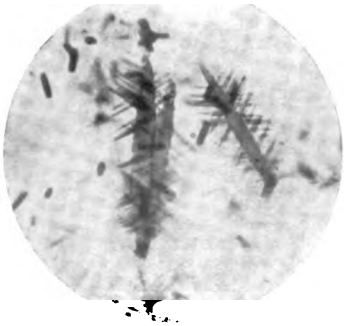


Fig. 2. Nori-Phycocyan,
Nadelform und Phycoerythrin.

Fig. 3.
Nori-Phycocyan, Prismenform.

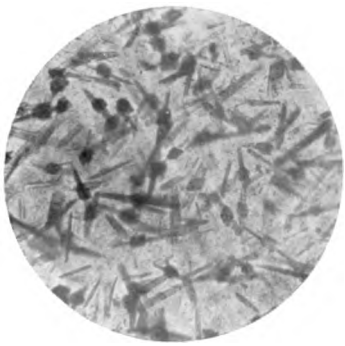


Fig. 4. Nori-Phycocyan,
Verwachsung beider Formen.

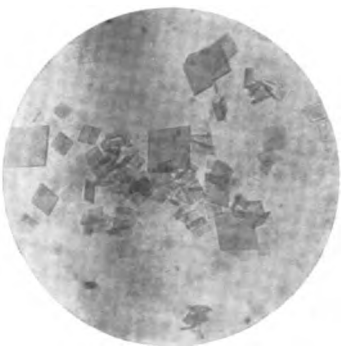


Fig. 5. Ceramium-Phycocyan.

Digitized by Google

Digitized by Google

b) *Rhombenform.* Zum Teil rhombische Täfelchen (Winkel 60°), Fig. 1, zum Teil in Gestalt gleichseitiger Dreiecke. Sehr häufig liegen in einer Kantenrichtung gestreckte Rhomben so übereinander, daß

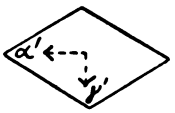


Fig. 1.

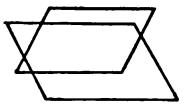


Fig. 2.

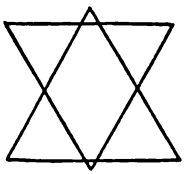


Fig. 3.

diese als zweizählige Drehachse erscheint (Fig. 2). Auch die Dreiecke zeigen symmetrische Verwachsung (Fig. 3). Die optische Orientierung zeigt Fig. 1. Die Farben sind die gleichen wie die der Prismenform.

II. Ceramium-Phycocyan.

Rhombenform mit Kantenwinkel von 78,5° (Fig. 4). Pleochroismus ähnlich wie oben. Mehrfach sind die Blättchen parallel zu ihrer Tafelfläche wirtelförmig miteinander zu einer fast kreisförmigen Gruppe verwachsen. Eingetrocknete Krystalle zeigen typische Schwundrisse.

Weder bei I, noch bei II war im konvergenten Lichte eine eindeutige Interferenzfigur zu erhalten. Wo Einzelblättchen zwillingsartig übereinanderliegen, wird die Doppelbrechung und der Pleochroismus meist völlig kompensiert."

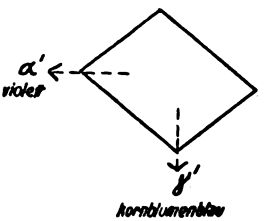


Fig. 4.

Die verdünnten Lösungen des Noripigments sind blaugrün, die konzentrierten rein blau.

Zur Isolierung des Pigments wird die abgeschleuderte und gut abgetropfte Krystallmasse in Wasser gelöst und durch Versetzen mit dem doppelten Volumen Aceton koaguliert. Nach dreistündigem Stehen wird abzentrifugiert, mehrmals mit dem verdünnten Aceton und schließlich mit reinem Aceton verrührt und abgeschleudert. Nach Verdunsten des Acetons in gelinder Wärme wird im Exsiccator getrocknet und gepulvert. Der geringe Teil des Pigments, der bei dieser Behandlung nicht gefällt wird, fällt bei Versetzen mit mehr Aceton aus, schließt aber etwas Ammonsulfat ein, das durch Waschen mit Wasser teilweise entfernt werden kann. Das trockene Pigment ist schön hell-

Digitized by Google

blau und löst sich weder in Wasser, noch in stark verdünnter Ammoncarbonatlösung. Es ist also denaturiert. Auch Phycocyan-Krystalle werden bereits durch verdünnten Alkohol amorph und denaturiert. Ceramium–Phycocyan wird ebenso als ein dunkel blauviolettes Pulver gewonnen.

In der ersten Abhandlung (a. a. O.) waren einige spektralphotometrische Analysen von Nori auf Grund der Extinktionskoeffizienten des Ceramium–Phycocyans berechnet worden. Diese müssen nun umgerechnet werden. Bei den für die Analyse gewählten Wellenlängen zeigt eine 1-proc. Lösung von Nori–Phycocyan folgende (spezifische) Extinktionskoeffizienten:

λ in mμ:	652	615	565	550	540
ε_{sp}:	0,36	9,74	4,07	2,90	2,21.

Die Gleichungen[1]) für die Analyse des Nori lauten demnach:

$$x = c - 0{,}395\, b - 0{,}605\, a$$
$$y = 1{,}038\, b - 1{,}038\, a$$
$$(z = 1{,}038\, a - 0{,}038\, b)$$
$$\varepsilon_{sp}^{565\ m\mu} \text{ für Phycoerythrin} = 7{,}95$$
$$\varepsilon_{sp}^{615\ m\mu} \text{ für Phycocyan} = 9{,}74.$$

Das Phycocyan aus Nori besitzt also eine etwas stärkere maximale Absorption als das von Ceramium und dementsprechend sind die damals angegebenen Phycocyangehalte von Nori zu hoch; die Phycoerythringehalte ändern sich nur wenig. Nori enthält danach 1,5—1,8 Proc. Chromoproteide (ber. auf aschefreie Substanz), 0,35—0,65 Proc. Phycocyan (25—35 Proc. der Chromoproteide). Die zuletzt gelieferte Ernte ist aber pigmentreicher (2,55 Proc. Chromoproteide, 1,87 Proc. Phycoerythrin, 0,67 Proc. Phycocyan).

Phycoerythrin.

Die Darstellung des Pigments ist bereits in der ersten Abhandlung beschrieben. Zuweilen reicht zur ersten Fällung eine Ammonsulfatkonzentration von 40 Proc. der Sättigung nicht völlig aus, es empfiehlt sich also spektrophotometrische Untersuchung der braunen bis rotbraunen Mutterlaugen vor dem Weggießen. Bei der Aufarbeitung

[1]) Vgl. A. **461**, 72 (1928). Die *Ansatz*gleichungen sind dort durch einen Irrtum und Druckfehler entstellt. Sie sollten lauten:

$$a = z + 0{,}104\, y; \quad b = y + z; \quad c = x + 0{,}532\, y + z.$$

Die Gleichungen selbst sind richtig, nur setze Zeile 3, S. 72: y statt x.

Digitized by Google

der großen Ansätze hat sich die Sharples-Suprazentrifuge sehr bewährt. In den Mutterlaugen der Krystallisationen häufen sich die Beimengungen, Schleimstoffe und Zelltrümmer an, und nur sehr energisches Zentrifugieren ermöglicht ihre Entfernung. In verzweifelten Fällen hilft dann manchmal eine allerdings sehr langwierige Filtration. Die Isolierung des Pigments geschieht in der beim Nori-Phycocyan beschriebenen Weise durch Fällung mit Aceton. Das tief purpurrote Pulver löst sich in Wasser mit einer Spur Ammoncarbonat auf und die Lösung unterscheidet sich in Farbe, Fluorescenz und Absorption nicht von der des nativen Eiweißes; es ist also hier keine Denaturierung eingetreten.

Durch 12 tägige Dialyse der Lösung im Schnelldialysator wurde der größte Teil des Pigments in kleinen Krystallen ausgeschieden. Der Aschegehalt beträgt dann nur noch 0,28 Proc. (zumeist $CaSO_4$). Das so ausgeschiedene Globulin ist in Gläsern, die kein Alkali abgeben, auch mit Ammonsulfatzusatz nicht mehr in Lösung zu bringen, sofort aber mit einer Spur Ammoncarbonat.

Bei der Mikrobestimmung des freien Aminostickstoffs nach van Slyke mußte der Ammonsulfatgehalt der Lösung berücksichtigt werden. Es wurden unter stets gleichen Bedingungen (40 Minuten Schütteln) neben den Leerbestimmungen zwei Bestimmungen durchgeführt, eine in 1 ccm der Chromoproteidlösung, eine zweite in einem aliquoten Teile des Filtrats nach der quantitativen Ausfällung des Eiweißes durch Koagulation. Es ergaben sich, berechnet auf 1 ccm der 1,67-proc. Phycoerythrinlösung 1,48—1,24 = 0,24 mg Aminostickstoff, also 1,44 Proc. freier Aminostickstoff im Phycoerythrin (9,4 Proc. des Gesamtstickstoffs). Die Bestimmung ist als Differenzbestimmung nicht sehr genau, zeigt aber, daß das Phycoerythrin sich von anderen Eiweißstoffen auch in diesem Punkte nicht unterscheidet.

Pepsinspaltung des Phycoerythrins.

100 ccm einer 3,5-proc. Phycoerythrinlösung (spektrophotometrisch bestimmt) werden mit 3 ccm 10-proc. Salzsäure und einer Lösung von 0,5 g gegen Eialbumin gut wirksamen Pepsins (in lamellis von Merck) in $^n/_{10}$-Salzsäure versetzt. Die Lösung stand im Brutschrank bei 37° 9 Tage. Am zweiten, vierten und sechsten Tage wurde erneut je 0,1 g Pepsin zugegeben, insgesamt also 0,8 g. Zuerst gaben die Proben beim Versetzen mit der 7 fachen Menge von Alkohol noch rotviolett gefärbte Fällungen, nach 8 Tagen war die Fällung farblos geworden. Es wurde nun mit dem 7 fachen Volumen Alkohol versetzt; der Niederschlag wurde abfiltriert und wog getrocknet 0,76 g. Er

Digitized by Google

bestand also fast nur aus Pepsin (0,8 g Pepsin ergab im Leerversuch 0,72 g). Fast das gesamte Peptongemenge war im Alkohol von 80 Proc. noch gelöst.

Wurde die saure alkoholische Lösung im Vakuum bei 40° Badtemperatur eingedampft, so verfärbte sie sich nach Schwarzblau. Ein Teil des Rückstandes war mit blauer Farbe in absolutem Alkohol, ebenso in Essigester löslich. Aus der Essigesterlösung ging er weder in Wasser, noch in Sodalösung. Die neutrale Lösung dieses Stoffes ist violett, mit ammoniakalischer Zinksalzlösung wird sie blaugrün mit intensiver roter Fluorescenz und zeigt ein starkes Band im Orangerot (630 mμ), neben schwächeren bei 585 und 511 mμ. Dieser Stoff wurde in der ersten Abhandlung bereits als „Phycobilin B" erwähnt. Der alkoholunlösliche Anteil löst sich glatt in Wasser und gibt dieselben Farbreaktionen wie der alkohollösliche. Wird jedoch die alkoholisch-salzsaure Lösung vor dem Eindampfen mit Natriumbicarbonat neutralisiert, wobei die Farbe nach Rotbraun umschlägt, und dann eingedampft (im Vakuum), so erhält man einen braunen, in Wasser leicht löslichen, in absolutem Alkohol fast unlöslichen, in schwach salzsaurem (0,6 Proc.) absolutem Alkohol jedoch unter Zurücklassung von Kochsalz und einigen farblosen Flocken mit rotvioletter Farbe löslichen Rückstand. Dieses Peptongemenge, das nach seiner Entstehung noch einen großen Teil vom Eiweiß enthalten muß, war in der ersten Arbeit als „Phycobilin A" geschildert. Eine sekundäre Änderung des Farbstoffanteils ist auch hier eingetreten: die ammoniakalische Lösung zeigt auf Zusatz von Zinkacetat bereits schwach das Band des Cyanobilins im Orangerot. Chloroform löst aus der wäßrigen Lösung nichts. Amylalkohol löst aus der wäßrigen salzsauren Lösung nur einen Teil des Pigments, nichts aus einer mit Bicarbonat versetzten Lösung. Schüttelt man die Lösung in Amylalkohol wieder mit verdünnter Säure, so geht ein Teil des Pigments in wäßrige Lösung zurück.

Die Xanthoproteinreaktion, auch bei dem mit Amylalkohol extrahierten Pigment ist positiv; die entgegengesetzte Angabe der ersten Abhandlung beruhte auf einem Irrtum. Die Farbe der Pigmentlösung ist viel stärker als die gelbe Farbe nach der Salpetersäureoxydation und die zur Reaktion verwandten Pigmentlösungen waren nur zu schwach. Eine der Xanthoproteinreaktion ganz ähnliche Reaktion geben aber auch die eiweißfreien Farbkomponenten. Ebensowenig ist die Biuretreaktion zur Prüfung auf Eiweißbestandteile anwendbar, da Phycoerythrobilin mit Kupfersalzen wie Urobilin eine ähnlich gefärbte Komplexverbindung liefert.

Digitized by Google

Die Versuchsergebnisse können nur so gedeutet werden: Bei der Pepsinspaltung bleibt die Farbkomponente an peptonartige Bruchstücke des Eiweißes gebunden. Ein solches Peptongemenge liegt im „Phycobilin A" vor. Auffallend ist die Löslichkeit in schwach saurem Alkohol. Verdampft man ohne vorherige Neutralisation, so tritt in der warmen alkoholisch salzsauren Lösung eine weitgehende Oxydation der Erythrostufe in die Cyanostufe ein. Ferner wird ein Teil der Peptone durch die Säure in der Wärme weiter gespalten, die Farbstoffkomponente wird frei und gleichzeitig verestert. „Phycobilin B" ist also Phycocyanobilinäthylester, der wohl auch noch an kleinere Peptidreste gebundenen Cyanobilinester enthält. Daneben bleiben mit der oxydierten Farbkomponente verbundene Peptone bestehen. Da ihre Carboxylgruppen unter den milden Bedingungen nicht verestert werden, so sind diese Stoffe wasserlöslich, wenn der hydrophile Eiweißrest den Rest des hydrophoben Esters der Farbkomponente an Größe übertrifft.

Ein zweiter, dem ersten gleicher Ansatz von 100 ccm 2,23-proc. Phycoerythrinlösung mit Pepsin-Salzsäure wurde anders aufgearbeitet. Die saure Lösung wurde nach der Spaltung 10 mal mit 10 ccm Amylalkohol extrahiert, wobei die Menge des in den Amylalkohol gehenden Pigmentanteils viel rascher als die Farbe der Pigmentlösung abnahm. Aus der amylalkoholischen Lösung wurde das Pigment zum spektrophotometrischen Vergleich durch Zusatz des gleichen Volumens Äther wieder in $^{n}/_{10}$-Salzsäure übergeführt. Die Absorptionskurven des in Amylalkohol löslichen und unlöslichen Anteils waren sehr ähnlich. Sie zeigten das Hauptmaximum bei 491 mμ, daneben nur eine Unstetigkeit bei etwa 550 mμ, die beim löslichen Anteile etwas mehr nach dem kurzwelligen, beim unlöslichen nach dem langwelligen Teile zu lag. Der Vergleich der maximalen Extinktionskoeffizienten bei 491 mμ ergab, daß nur 7,2 Proc. der Extinktion in die Amylalkohol-Lösung gegangen waren. Die aus dieser erhaltenen wäßrigen Lösungen wurden nach Befreiung vom Amylalkohol durch Ausäthern im Vakuumexsiccator über Alkali eingedunstet. Der Rückstand wog

Digitized by Google

0,091 g = 4,1 Proc. des angewandten Phycoerythrins. Hygroskopische rotbraune Krusten. Spezifische Extinktion bei 491 mμ in saurer Lösung 5,4. Die Farbstoffkomponente ist also im Amylalkohol angereichert, aber noch nicht frei (vgl. die Extinktion des Phycoerythrobilinesters).

Während eine Phycoerythrin-Lösung im Dunkeln oder im schwach diffusen Licht bei Fäulnisausschluß sehr lange haltbar ist (eine 3-proc. Lösung verlor in drei Monaten 4 Proc. ihrer Extinktion), zersetzt sich eine salzsaure Lösung des Pepsinspaltproduktes an der Luft auch im Dunkeln bereits merklich rascher, sehr rasch im diffusen Licht. Die Verminderung der maximalen Extinktion betrug hier 1 Proc. in je drei Tagen und wuchs in diffusem Licht auf 6 Proc. in einem Tage, um dann im Dunkeln wieder auf 2 Proc. im Tage abzusinken, bei Belichtung erneut zu steigen.

Pepsinspaltung des Nori-Phycocyans.

In 100 ccm einer 1,63-proc. Lösung von Nori-phycocyan wurden 8 ccm n-Salzsäure gegeben. Die schwach saure Lösung ist blau ohne Fluorescenz. Es wurde nun eine Lösung von 0,5 g Pepsin hinzugefügt und bei 37° im Brutschrank aufbewahrt, bis die Fällung auf Zusatz von Alkohol zu einer Probe fast farblos war, was erst nach 8 Tagen eintrat. Eine Farbänderung der Lösung war nicht erfolgt. Es wurde nun mit Amylalkohol versetzt und vom teilweise sich ausscheidenden Pepsin abgesaugt. Wie bei Phycoerythrin ging nur ein Teil des Pigments in den Amylalkohol und beim Schütteln der amylalkoholischen Lösung mit Wasser wieder teilweise in dieses zurück. Erst wenn das Pigment längere Zeit in salzsaurem Amylalkohol gelöst war, geht es nicht mehr in Wasser, aber auch nicht mehr in Sodalösung, es ist eine Veresterung eingetreten.

Eine dreitägige erschöpfende Extraktion der Lösung mit Amylalkohol bei 55° Badtemperatur im Vakuum des Dakin-Apparates ließ ebenfalls die wäßrige Lösung noch stark gefärbt zurück. Bei der langen Erwärmung trat neben der Veresterung jedoch auch bereits eine Veränderung der Farbkomponente ein, die Farbe wurde in der

Digitized by Google

wäßrigen wie in der amylalkoholischen Phase blaugrün. Zum spektrophotometrischen Vergleiche wurden die wäßrige und die amylalkoholische Lösung durch Zufügen hier von Alkohol und Amylalkohol, dort von Alkohol und verdünnter Salzsäure in das gleiche Medium gebracht. Die Kurven zeigten für beide Lösungen ein flaches Maximum der Absorption im Orange. Der Vergleich der Extinktionskoeffizienten ergab, daß nur etwa $^1/_4$ des Pigments in die amylalkoholische Lösung gegangen war und daß die Summe der Extinktion beider Lösungen nur noch einen geringen Bruchteil der maximalen Extinktion der schwach angesäuerten Phycocyanlösung ausmachte. Die Zinkreaktion war nicht mehr normal. Es sind also bereits starke Veränderungen bei der Extraktion erfolgt.

Spektrophotometrische Untersuchung der Salzsäurespaltung des Nori-Phycocyans.

Eine mit $^n/_{10}$-Salzsäure angesäuerte Nori-Phycocyanlösung ist grünblau und zeigt ein Maximum der Absorption bei 656 mμ (Fig. 5, Kurve I). Die Gesamtextinktion ist stark gesunken und beträgt nur noch 2,28 (als „spezifische Extinktion" auf das Chromoproteid berechnet) im Absorptionsmaximum (gegen 9,74 des Phycocyans). Eine solche Lösung gibt bereits mit ammoniakalischer Zinklösung die für das Cyanobilin[1]) charakteristische Reaktion.

Es wurde je 1 ccm Pigmentlösung von spektrophotometrisch bestimmtem Gehalt mit 50 ccm konz. Salzsäure versetzt und nach 3 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur (Fig. 5, Kurve II), oder $^1/_4$ stündigem Digerieren bei 80° im Stickstoffstrom (Kurve III) oder im Luftstrom auf einen Salzsäuregehalt von 10 Proc. verdünnt und im König-Martens-Grünbaum-Apparat die Extinktion gemessen.

Man erhält einen völlig genügenden Überblick über den Verlauf der Kurven, wenn man — vorausgesetzt, daß man die Nullstellung des Apparates kennt (Korrektur bei dem verwendeten Apparate + 0,85°) — nur je einen Winkel für die beiden vertauschbaren Lagen der Röhren mit Lösung und Lösungsmittel mißt und nur an den Wendepunkten und einigen ausgesuchten Stellen genaue Messungen in der in der

[1]) Der Kürze halber stehen im experimentellen Teil Cyanobilin und Erythrobilin für Phycocyanobilin und Phycoerythrobilin.

Digitized by Google

ersten Abhandlung geschilderten Weise vornimmt. Für orientierende Bestimmungen genügt sogar die Bestimmung nur eines Winkels. Ich habe mir für diesen Fall eine Tabelle angefertigt, die aus diesem (α_2)

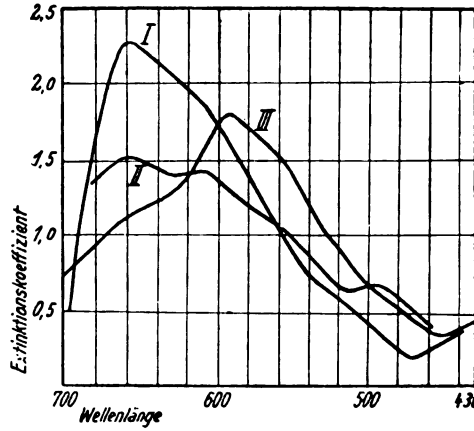


Fig. 5.

sofort den Extinktionskoeffizienten abzulesen gestattet. Die dafür notwendige Annahme, daß der zweite Winkel $90° - \alpha_2$ ausmacht, trifft zwar nur ganz grob zu, aber die Abweichungen des so gefundenen Extinktionskoeffizienten gegen den genau ermittelten sind innerhalb des Winkelbereichs von 10—30° für α_2 nicht erheblich, wenn die Lampe gut zentriert steht.

Die angegebenen Extinktionen entsprechen denen von 0,1 g Chromoproteid in 100 ccm.

Man ersieht aus den Kurven, daß die Absorption nach Behandlung mit konz. Salzsäure bei Zimmertemperatur (Kurve II) als die eines Gemisches nach I und nach III zu deuten ist. Aus der mit Bicarbonat auf 3 Proc. Salzsäuregehalt abgestumpften Lösung ist mit Chloroform kein Pigment herauslösbar. Auffällig ist das Auftreten eines kleinen Zackens bei 495 mμ, der für eine kleine Beimengung von Ceramium-Phycocyan sprechen könnte (siehe dessen Spaltung).

Wird mit konz. Salzsäure unter Luftausschluß $^1/_4$ Stunde auf 80° erwärmt, so wird die Farbe der Lösung rein blau, das Maximum im Rot ist verschwunden und statt dessen eines im Orange bei 598 mμ aufgetreten ($\varepsilon_{sp}^{598} = 1{,}81$), Kurve III.

Digitized by Google

Die Kurve des komplexen Zinksalzes, vgl. Fig. 8, S. 229. Wird Luftsauerstoff nicht ausgeschlossen, so ist die Farbe der Lösung mehr grünblau und es tritt allmählich ein flaches Maximum im Rot auf, doch geht die Veränderung viel langsamer vor sich als die später beschriebene Oxydation des Erythrobilins. Das Pigment mit Absorptionskurve III ist mit Chloroform aus der sauren Lösung extrahierbar und ist das isolierte Phycocyanobilin.

Nori–Phycocyan gibt, wie alle daraus durch die Salzsäurespaltung gewonnenen Pigmente, mit Salpetersäure eine der Gmelinreaktion ähnliche Farbreaktion unter Farbwechsel von Blau über Blauviolett, Rotviolett, Rot, Gelbrot nach Gelb. Die rotviolette Stufe gleicht nun in ihrer Farbe und Absorption, sowohl in saurer Lösung wie in ammoniakalischer Zinklösung, fast völlig dem Erythrobilin bis auf eine stärkere Absorption im kurzwelligeren Teile des Spektrums, ja sogar die grüne Fluorenscenzfarbe des Zinksalzes ist die gleiche. Auch das durch Oxydation des Erythrobilins gewonnene Cyanobilin gibt die eben geschilderte Reaktion. Dieses „Choletelin" läßt sich mit Chloroform aus der verdünnten Lösung extrahieren und ist seinerseits natürlich nicht mit Ferrichlorid zu Cyanobilin zu oxydieren wie Erythrobilin. Hier hätte wieder einmal die bloße spektroskopische Beobachtung in die Irre führen können.

Salzsäurespaltung des Phycoerythrins unter Luftausschluß.

Eine mit $^n/_{10}$-Salzsäure angesäuerte Phycoerythrinlösung ist rotviolett und besitzt statt der beiden Maxima im Grün nur eines bei 556 mμ, ein Minimum bei 513 mμ, und wie Phycoerythrin selbst ein zweites schwächeres Maximum bei 495 mμ, dann sinkt die Absorption bis weit ins Violett. Die spezifischen Extinktionskoeffizienten betrugen bei 556 mμ 4,73, bei 495 mμ 4,11 (Fig. 6, Kurve I).

Die erste weitere Änderung, so beim Stehen der $^n/_{50}$-salzsauren Lösung unter Stickstoff besteht in einer relativen Zunahme der Bande 495 gegenüber der Bande 556. So

Digitized by Google

ist nach 12 Stunden das Verhältnis der Stärke der beiden Banden umgekehrt. Ähnliche Produkte gibt die Pepsinspaltung.

Zu den folgenden Versuchen wurde je *ein* Kubikzentimeter einer 1,67-proc. Phycoerythrinlösung in 50 ccm konz. Salzsäure gelöst. Die angegebenen Extinktionen beziehen

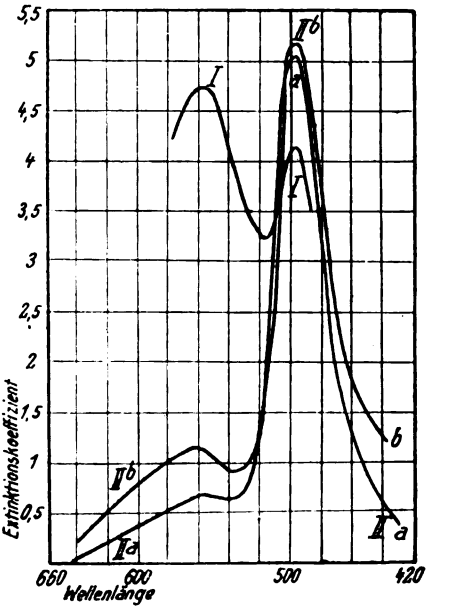


Fig. 6.

sich auf 0,1 g Chromoproteid und 100 ccm Lösung in 10-proc. Salzsäure. Nach 7 stdg. Stehen in der konz. Säure unter Stickstoff bei Zimmertemperatur wurde auf einen Salzsäuregehalt von 10 Proc. verdünnt und die Absorption gemessen. Die einzige Veränderung besteht in einer weiteren Verminderung des Maximums im Grün. $\varepsilon^{495} = 5{,}0$; $\varepsilon^{556} = 0{,}67$ (Fig. 6, Kurve IIa). Die Farbe der Lösung in konz. Salzsäure ist gelblichrot, in verdünnter rotviolett. Kurve des Zinkkomplexsalzes, vgl. Fig. 8, Kurve III. Das Pigment ist aus salzsaurer Lösung nicht völlig in Amylalkohol zu bringen.

Digitized by Google

Erwärmt man Phycoerythrin in einer Stickstoffatmosphäre 30 Minuten mit konz. Salzsäure auf 85°, so erhält man nach Verdünnen eine ähnliche Kurve (IIb). Aus der auf einen Salzsäuregehalt von etwa 5 Proc. mit Ammoncarbonat vorsichtig abgestumpften Lösung nimmt Amylalkohol das gesamte Pigment auf. Aus dieser Lösung fällt das gleiche Volumen Äther nichts mehr; Wasser löst aus der amylalkoholischen Lösung nichts mehr heraus, wohl aber bei sofortiger Zugabe Natrium-bicarbonat-Lösung unter Farbumschlag nach Braun; mit Essigsäure ist das Pigment wieder in den Amylalkohol zu treiben. Nach kurzem Stehen in der amylalkoholischen, schwach sauren Lösung ist stets ein Teil mit Amylalkohol verestert und geht nicht mehr in die alkalische Lösung. Es fällt auf, daß hier ein höherer Wert für das Maximum im Grün gefunden wird als bei der Spaltung bei Zimmertemperatur und daß dieses nach Rot zu verschoben ist. $\varepsilon_{sp}^{569-562} = 0{,}9—1{,}2$. Es ist anzunehmen, daß diese Veränderungen von einer geringen Oxydation zum Cyanobilin herrühren. Vergleiche dazu die im nächsten Kapitel beschriebenen Versuche. Eine Beimengung von Cyanobilin konnte auch durch das Ergebnis der Chloroformextraktion nachgewiesen werden (vgl. S. 240). Das Hauptmaximum 495 mμ zeigt bei der Spaltung eine bemerkenswerte Konstanz.

Spaltung von Phycoerythrin unter gleichzeitiger Oxydation der Farbkomponente.

Wird eine Lösung von Phycoerythrin in konz. Salzsäure auf etwa 80° erwärmt, so wird die zunächst rotviolette Lösung über Violett und Blauviolett blau, schließlich grünblau. Dieser Farbwechsel bleibt jedoch aus, wenn man Phycoerythrin in einer sauerstofffreien Atmosphäre, in Stickstoff oder Kohlendioxyd, mit der heißen Säure behandelt. Diese Oxydation der freigesetzten Farbkomponente tritt ebenso ein, wenn man nach Spaltung unter Luftausschluß die schwach saure Lösung an der Luft erwärmt. Wurde eine Phycoerythrinlösung 30 Minuten in konz. Salzsäure auf 85° erwärmt, so war die Farbe blau. Die

Digitized by Google

spektralphotometrische Untersuchung der Absorptionskurve der 10-proc. salzsauren Lösung (Fig. 7, Kurve I) zeigt, daß

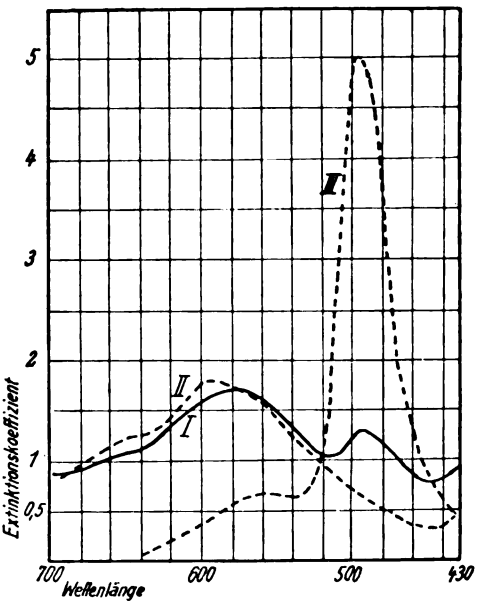


Fig. 7.

diese „blaue Farbkomponente" Kitasatos[1]) ein Gemisch der salzsauren Salze von Cyanobilin (Kurve II), das durch die oxydative Wirkung des Luftsauerstoffs aus dem Erythrobilin entstanden ist und von etwas unverändertem Erythrobilin (Kurve III) darstellt. Die Extinktionen beziehen sich wieder auf 0,1 g Chromoproteid in 100 ccm Lösung in 10-proc. Salzsäure.

Ferner wurden durch Versetzen mit Ammoniak und Chlorzinklösung die *Zinkkomplexsalze* dargestellt; hier muß besonders auf gleiche Konzentration an Chlorzink und nur ganz schwach ammoniakalische Reaktion geachtet werden. Stärkere Alkalität vermindert die Extinktion. Zwischen Mischung und Messung wurde stets 5 Minuten gewartet,

[1]) Aus den Kurven Kitasatos ist zu schließen, daß das Gemenge, das er in Händen hatte, noch etwas erythrobilinreicher war.

Digitized by Google

da die Bildung der Zinkkomplexsalze eine deutliche Zeitreaktion ist. Dann sind die Werte der Zinksalzextinktionen ebensogut reproduzierbar wie die der salzsauren Lösung. Fig. 8 zeigt, daß auch die Kurve des Zinkkomplexsalzes (I)

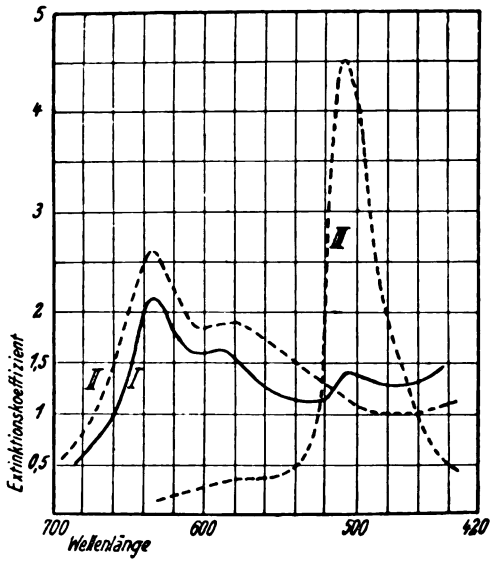


Fig. 8.

sich additiv aus der des Cyanobilin-Zinks (Kurve II) und des Erythrobilin-Zinks (Kurve III) zusammensetzt. Die Additivität der Kurve stimmt auch quantitativ gut. Berechnet man aus dem Verhältnis der Maxima das Verhältnis von Erythro- zu Cyanobilin, so ergibt sich, daß die Absorption des oxydierten Erythrobilins sich aus 85,5 Proc. der des Cyanobilins und 14,5 Proc. der des unveränderten Erythrobilins zusammensetzen müßte. Konstruiert man daraus die Kurve, so ergibt sich, daß sie bis auf geringe Abweichungen im äußersten Rot und etwas stärkere im Blau mit der gefundenen übereinstimmt. Diese Abweichungen finden ihre Erklärung in der geringeren Meßgenauigkeit des KMG-Apparates in diesen Gebieten, es ist aber auch möglich, daß noch andere Pigmente, die durch weitere Oxydation des Cyanobilins entstehen und hier

Digitized by Google

absorbieren, beigemengt sind. Aus der Zinkkurve ergibt sich ebenso ein Verhältnis von 87 Proc. Cyanobilin und 13 Proc. Erythrobilin und die Kurve stimmt bis auf eine Abweichung im Blau ausgezeichnet mit der errechneten überein. Dadurch ist es erwiesen, daß hier Gemische von Cyanobilin und Erythrobilin vorliegen. Aus der Berechnung läßt sich aber noch eine weitere Folgerung ableiten. Die angegebenen Extinktionen beziehen sich nicht auf bestimmte Mengen der Farbkomponente, sondern auf gleiche Mengen Chromoproteid. Wenn also aus Phycoerythrin hier eine Kurve erhalten wird, die sich additiv berechnen läßt unter Einsatz der Extinktionen auf gleiche Mengen Chromoproteid (Erythrobilin auf Phycoerythrin, Cyanobilin auf Phycocyan) bezogen, so müssen die beiden Farbkomponenten in den Chromoproteiden im gleichen oder annähernd gleichen Äquivalentverhältnis vorhanden sein, wenn aus einem Molekül Erythrobilin ein Molekül Cyanobilin entsteht.

Oxydation findet auch bei Spaltung mit konz. Salzsäure bei Zimmertemperatur langsam statt. Alle Versuche, aus dem Phycoerythrin durch oxydierende Spaltung Cyanobilin zu erhalten, scheiterten daran, daß die Weiteroxydation des Cyanobilins zu dem im äußersten Rot absorbierenden grünen Stoffe beginnt, ehe alles Erythrobilin oxydiert ist. Der letztere Stoff ist wieder schwerer löslich in Chloroform; dieses extrahiert daher aus dem schwach sauren Oxydationsgemisch hauptsächlich Cyanobilin mit blauer Farbe, das aber stets mit den anderen Pigmenten verunreinigt ist. Nach einem teilweisen Abbau unter unvollständiger Oxydation, so durch kurzes Erwärmen mit konz. Salzsäure bis zum Erreichen der blauvioletten Farbe, ist der am weitesten abgebaute Anteil auch stets der stärker oxydierte. So enthält in diesem Falle die blaue Chloroformlösung fast reines Cyanobilin, die amylalkoholische blauviolette ein Gemenge von viel Cyano- mit wenig Erythro-, die wäßrige rote Phase fast nur Erythro-Komponente.

Wesentlich rascher, aber mit demselben Ergebnis, oxydiert eine salzsaure *Ferrichloridlösung* in der Wärme. Die Farbe schlägt nach Grün um und Chloroform extrahiert

Digitized by Google

Cyanobilin mit blauer Farbe. Es tritt aber stets schon auch weitere Oxydation zu dem grünen Pigment ein (ebenso, wenn man von Phycocyan ausgeht) und der Zeitpunkt, an dem die Reaktion abzubrechen ist, ist kaum abzupassen. Ist die Spaltung wieder ungenügend, so erhält man zuweilen den amylalkohollöslichen grünblauen Stoff mit dem Absorptionsmaximum 656, der das erste Produkt der Säureeinwirkung auf Phycocyan darstellt. Bei Zimmertemperatur oxydiert Ferrichlorid viel langsamer.

Einen ganz anderen Verlauf nimmt die Oxydation des Phycoerythrins mit Salpetersäure. Unter Erhöhung der Absorption im kurzwelligen Teile des Spektrums entstehen hier braune, schwach blaugrün fluorescierende Lösungen mit dem Erythrobilin noch ähnlicher Absorptionskurve, dann verschwinden Fluorescenz und selektive Absorption und die Lösung wird gelb.

Salzsäurespaltung des Ceramium-Phycocyans.

Eine mit $^n/_{10}$-Salzsäure angesäuerte Ceramium-Phycocyanlösung besitzt eine Absorptionskurve mit einem Hauptmaximum bei 562 mμ und einem geringeren und flacheren Maximum bei 651—641 mμ.

Beim Stehen in konz. Salzsäure bei Zimmertemperatur wird die Lösung blauviolett. Das erste Maximum verschwindet bis auf eine Unstetigkeit in der Kurve, diese zeigt 2 Maxima bei 598 und 495 mμ (Fig. 9, I). Versucht man die Kurve als die eines Gemisches von Erythro- und Cyanobilin zu errechnen, so zeigen sich Abweichungen: Die Absorption reicht weiter ins Rot, die nach Ultraviolett abfallenden Äste der beiden Maxima sind schwächer geneigt. Das hier kein solches Gemisch vorliegt, zeigt auch das Ergebnis der Spaltung mit heißer konz. Salzsäure. Erwärmt man nur 1 Minute, so gleicht die Absorption der eben beschriebenen. Bei längerer Spaltung aber, $^1/_2$ Stunde bei 85°, wird die Lösung rein blau, Band 495 verschwindet (Fig. 9, Kurve II). Der Versuch wurde unter peinlichstem Luftausschluß mehrfach mit demselben Erfolge wiederholt.

Digitized by Google

Die so erhaltene Lösung zeigt sowohl in 10-proc. Salzsäure wie in schwach ammoniakalischer Zinklösung eine dem Nori–Cyanobilin fast völlig gleichende Absorptionskurve. Nur ist die Absorption in der sauren Lösung im

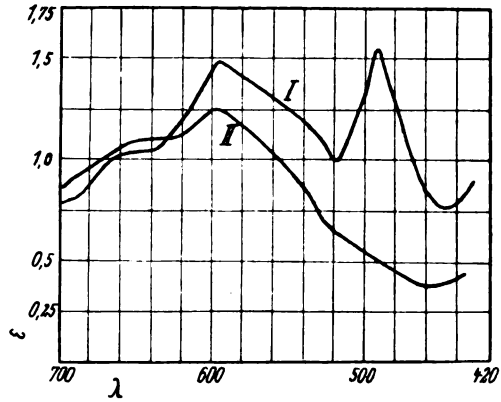


Fig. 9.

Rot infolge einer Unstetigkeit der Kurve bei 650—630 mμ etwas stärker. Auch Farbe und Fluorescenz der Zinklösung sind völlig gleich. Das Pigment ist ebenfalls in Chloroform löslich. Die Extinktionen, berechnet auf das Chromoproteid, sind schwächer und betragen nur etwa $^2/_3$ von der bei Nori–Phycocyan erhaltenen, ganz entsprechend der geringeren Farbstärke des Ceramium-Pigments. Hier wäre also bei Annahme der gleichen Farbkomponente der Eiweißanteil größer.

Alkalispaltung.

Bei Erhitzen in verdünnter Sodalösung von 1—5 Proc. oder Natronlauge von $^1/_2$—1 Proc. auf dem Wasserbade entstehen aus Phycoerythrin und Phycocyan sehr leicht chloroform- und ätherlösliche Stoffe der verschiedensten Farben je nach Dauer und Stärke des Erhitzens und der Konzentration des Alkalis. Sofern die Einwirkung milde war, fällt Alkohol aus den mit Essigsäure neutralisierten Lösungen fast das gesamte Eiweiß, jedoch stark gefärbt, aus. Die Fällung ist in Wasser unlöslich. Nach stärkerer

Digitized by Google

Einwirkung des Alkalis gehen die nun schwach gefärbten Niederschläge spielend leicht in wäßrige Lösung und sind hygroskopisch; die Fällung ist dann stets unvollständig. Auch bei Ausschluß von Luftsauerstoff lassen sich Veränderungen nicht verhindern und man erhält Gemische, darunter vorherrschend grüne Pigmente. Die Extinktionen der so erhaltenen Pigmentlösungen sind sehr gering.

Eine beginnende Alkalispaltung ist auch die in der ersten Abhandlung erwähnte Entstehung alkohollöslicher Produkte bei der Koagulation. Sie tritt beim Erhitzen am isoelektrischen Punkt nicht auf, zuweilen, nicht immer, beim Erhitzen der ganz schwach alkalischen Lösung und führt zu einem cyanobilinreichen Gemisch.

Phycocyanobilin aus Nori.

Nach der Spaltung von Nori-Phycocyan mit konzentrierter warmer Salzsäure ist stets ein Teil des Pigments nicht mit Chloroform aus der schwach sauren Lösung extrahierbar. Durch spektrophotometrische Bestimmungen der salzsäurehaltigen Chloroformlösung wurden die im folgenden mitgeteilten Bedingungen ermittelt, die das günstigste Resultat gaben:

2,0 g festes, durch Extraktion mit Äther von Lipoidspuren gereinigtes Nori-Phycocyan wurden in 70 ccm konz. Salzsäure 20 Minuten auf 80—85° (Temperatur im Bade) im sauerstofffreien Stickstoffstrom erwärmt. Eine längere Spaltungszeit bringt keine besseren Ausbeuten und birgt die Gefahr einer weiteren Veränderung der Farbkomponente in sich.

Der Stickstoff wurde durch Leiten über im Quarzrohr erhitzten Kupferasbest zusammen mit 4 Proc. Wasserstoff vom Sauerstoff befreit. Er ging dann durch eine als Blasenzähler dienende Waschflasche mit konz. Schwefelsäure und durch Schliffe und Glasschlangen in das Reaktionsgefäß, ein Kölbchen mit in den Schliff eingeschmolzenem Gaszu- und -ableitungsrohr mit Tropftrichter.

Das Chromoproteid wurde im Kölbchen mit Stickstoff überspült, die Salzsäure bei Zimmertemperatur zugegeben, zur Verdrängung von Luftspuren einige Minuten Stickstoff hindurchgeleitet und dann erst im Stickstoffstrom rasch auf die angegebene Temperatur erwärmt. Das Eiweiß geht

Digitized by Google

unter Aufschäumen und Entweichen von Chlorwasserstoff in Lösung. Man läßt nach 20 Minuten unter Stickstoff erkalten und verdünnt mit der dreifachen Menge ausgekochten Wassers. Wenn auch bei Zimmertemperatur die Empfindlichkeit gegen Luftsauerstoff, zumal in der Chloroform-Lösung viel geringer ist, empfiehlt es sich doch, die weitere Aufarbeitung rasch und im Schatten vorzunehmen, oder die Lösungen unter Stickstoff im Dunkeln aufzubewahren. Die tiefblaue wäßrige Lösung, die nicht mehr als 10 Proc. Salzsäure enthalten darf, wird mehrmals mit kleinen Mengen reinsten Chloroforms extrahiert, bis dieses nur noch ganz schwach gefärbt wird. Dabei vermeidet man ein heftiges Schütteln, da sonst eventuell Bildung eines blauen Niederschlages und einer Emulsion eintritt. Es gelingt so, etwa $^2/_3$ des Gesamtpigments in Chloroformlösung zu bringen, wie die spektrophotometrische Messung der Extinktion der wäßrigen Lösung beim Maximum 598 mμ vor und nach der Extraktion zeigt. Die tief indigoblaue Chloroformlösung wird nun einige Male mit 5-proc. Salzsäure, schließlich mit Wasser gewaschen. Dabei schlägt die Farbe durch Hydrolyse des salzsauren Salzes nach Blauviolett um; deutlicher ist der Farbumschlag noch im künstlichen Licht, in dem die Lösung des freien Ampholyten rotviolett erscheint.[1]) Man trocknet nun die Lösung mit wenig frisch geglühtem Natriumsulfat.[2]) Das Pigment ist aus der Chloroformlösung sehr leicht absorbierbar, man filtriert also durch nicht zu große Filter[3]) und wäscht gut mit trockenem Chloroform nach.

Beim Eindampfen der Lösung in Chloroform und beim Umkrystallisieren ist peinlicher Sauerstoffausschluß erforderlich, da sonst Oxydation unter Verfärbung nach Grün zu eintritt und dann eine Krystallisation unterbleibt. Die weitere Behandlung erfolgt in dem kleinen Apparate, den die Abbildung (Fig. 10) wiedergibt.

[1]) Die Gläser müssen zinkfrei sein!

[2]) Mit gekörntem Chlorcalcium kann man das Pigment aus dem Chloroform quantitativ herausholen, Chloroform löst es aus dem Chlorcalcium beim Auswaschen wieder heraus.

[3]) Die gute Anfärbbarkeit der Cellulose durch Gallenpigmente ist schon oft beobachtet worden, z. B. von W. Küster, H. 47, 294 (1906).

Digitized by Google

Sowohl A wie B stehen mit einem Kippschen Apparate mit luftfreiem Kohlendioxyd in Verbindung, man füllt von *A* her mit CO_2 und verdampft das Chloroform bei 30° im Vakuum und im Strome des nach Schließen von *A* durch die Capillare bei *B* eintretenden Kohlendioxyds ab. Das im Apparat bei 60° im Vakuum getrocknete Phycocyanobilin wurde nach Entfernung des Aufsatzes im mit passendem Schliffstopfen geschlossenen Kölbchen gewogen.

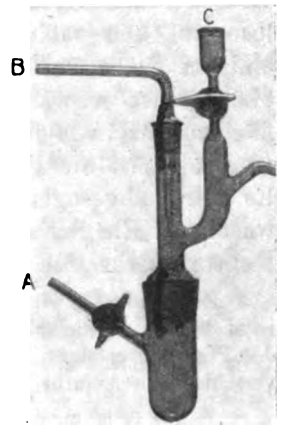


Fig. 10.

Aus 2 g Phycocyan wurden so 28,4 mg des Rohproduktes erhalten (1,42 Proc. des Chromoproteids). Da nach der spektrophotometrischen Messung nur etwa $^2/_3$ des Pigments in Chloroform gegangen sind, ist der Anteil der Farbkomponente am Phycocyan auf etwa 2,2 Proc. zu schätzen.

Die schwarzblaue Kruste mit lebhaftem roten Oberflächenschimmer wird in wenig Alkohol gelöst, mit Äther versetzt, und der Alkohol in einem kleinen Perforator durch Perforieren mit ausgekochtem Wasser im Stickstoffstrom herausgewaschen, wobei ein kleiner Teil des Pigments mit rotvioletter Farbe in Lösung geht und amorphe blaue Flocken ausfallen. Es wurde vergebens versucht, aus der so erhaltenen ätherischen Lösung Krystalle zu erhalten. Die ätherische Lösung wird mit $^n/_{10}$-Salzsäure extrahiert, die das Pigment mit rein blauer Farbe aufnimmt. Der Äther bleibt schwach violett zurück und zeigt eine schwache Bande im Rot, die vielleicht einer Spur Kupferkomplexsalz zuzuschreiben ist. Aus der salzsauren Lösung wird das Cyanobilin mit Chloroform extrahiert, die Chloroformlösung wird mit Wasser gewaschen und mit frisch geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Sie wird wieder in den Apparat eingefüllt, im Vakuum und CO_2-Strom konzentriert, bis die etwa $^1/_2$ cm oberhalb des Gefäßbodens endende Capillare nicht mehr eintaucht, das Vakuum unter Überspülung mit Kohlendioxyd von *A* her aufgehoben und bei 60° durch

Digitized by Google

das Trichterchen *C* mit dem gleichen Volumen heißen Benzols versetzt. Man entfernt unter Einleiten eines starken Kohlendioxydstroms den Aufsatz, setzt den Schliffstopfen zunächst lose auf und schließt dann Stopfen und Hahn *A*. Nach einigem Stehen erfolgte Ausscheidung kleiner, tiefdunkelblauer, fast schwarzer Prismen mit starkem roten Oberflächenglanze, von denen nur einige Krystalle gut ausgebildet waren. Tritt die Fällung zu rasch ein, so ist sie amorph. Es wird abgesogen und mit Benzol und Petroläther gewaschen. Ein Schmelzpunkt ist nicht vorhanden, das Pigment verfärbt sich und wird dann schwarz.

Zur Analyse[1]) wird im Hochvakuum bei 100° über Phosphorpentoxyd bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, wobei keine Veränderung des Pigments erfolgt. Die beiden Proben a und b stammen aus zwei verschiedenen Aufarbeitungen.

a) 3,380 mg Subst.: 7,901 mg CO_2, 2,170 mg H_2O.
3,194 mg „ 0,226 ccm N (13°, 753 mm).
b) 1,532 mg „ 3,603 mg CO_2, 1,050 mg H_2O.
3,670 mg „ 0,285 ccm N (21°, 752 mm).

$C_{34}H_{44}O_8N_4$	Ber.		C 64,11	H 6,97	N 8,81
	Gef.	a)	„ 63,74	„ 7,18	„ 8,38
		b)	„ 64,17	„ 7,68	„ 8,39.

Die Substanz enthält eine Spur Schwefel (Nitroprussidprobe schwach positiv). Eine Mikro-Lassaigne-Probe, mit Kalium die mit Glykokoll in dem Stickstoffgehalt entsprechender geringerer Menge sichere Resultate lieferte, versagte bei Phycocyanobilin völlig, wie das von H. Fischer[2]) und anderen[3]) bei Pyrrolderivaten schon beobachtet wurde. Die Substanz ist frei von Aminostickstoff.

Phycocyanobilin ist unlöslich in Wasser, löslich in verdünnter Salzsäure von mehr als $^n/_{50}$-HCl-Gehalt und verdünntem Ätznatron (stärker als $^n/_{1000}$), sehr leicht löslich in Alkoholen und Aceton, leicht in Chloroform und Eisessig, schwer in Benzol, Petroläther, Ligroin. In Äther ist es ziemlich schwer löslich, mit einer Spur Alkohol in ätherische Lösung

[1]) Die Mikroanalysen wurden im hiesigen Institut von Frl. Lang und Herrn Eder ausgeführt.
[2]) Z. B. 65, 180 (1915). [3]) F. Feist, B. 35, 1559 (1902).

Digitized by Google

gebracht, hält es sich aber auch nach Entfernen des Alkohols in Lösung. Die neutrale Lösung in Chloroform besitzt ein breites flaches Band im Grün (spezifische Extinktion von 20,6 bei 568 mμ), eine salzsaure ein ausgeprägteres bei 606 mμ ($\varepsilon_{sp} = 33{,}4$). Bei einem Molekulargewicht von 644 entspräche das einem molaren Extinktionskoeffizienten von 13100 bzw. 21250. Die alkalische Lösung ist rotviolett. Absorption und Eigenschaften des Zinkkomplexsalzes vgl. Tabelle S. 204.

Eine neutrale Chloroformlösung des Cyanobilins wurde mit Salzsäure verschiedener Konzentrationen geschüttelt. $^n/_{50}$-Salzsäure färbt noch rein blau (salzsaures Salz), $^n/_{75}$- und $^n/_{100}$-HCl geben blau-blauviolette Mischtöne, eine mit $^n/_{200}$-Salzsäure geschüttelte Lösung hat die Farbe der neutralen Verbindung. Der Umschlagspunkt liegt bei einem p_H der wäßrigen Phase von 1,8—2,2. Während das Cyanobilin aus der ätherischen Lösung von Salzsäure in der Salzbildung etwa entsprechendem Umfange aufgenommen wird, ist eine Extraktion aus der Chloroformlösung aber erst mit Salzsäure von mehr als 15 Proc. möglich.

Wird eine Lösung des Cyanobilins in Chloroform mit einer Lösung von einer Spur Nitrit in verdünnter Schwefelsäure durchgeschüttelt, so geht die Farbe über Blauviolett, Violett, Rot, Rotgelb nach Gelb.

Der in Chloroform unlösliche Teil des Pigments zeigt dieselbe Farbe und Absorption wie das Cyanobilin, nur eine Unstetigkeit bei 495 mμ fällt in der Kurve auf. Es gelingt nicht, durch Salzzusatz zu einer Probe einen weiteren Anteil des Pigments in die Chloroformlösung zu bringen. Der Rest wird fast völlig von Amylalkohol aufgenommen; beim Auswaschen mit Wasser geht nur ein kleiner Teil des Pigments wieder in die wäßrige Phase. Der Hauptanteil der Eiweißspaltprodukte ist in der schwach rotviolett zurückbleibenden wäßrigen Lösung enthalten. Beim Eindampfen hinterbleibt eine dunkelbraune hygroskopische Masse. Sie besitzt den Fleischbrühegeruch der Eiweißhydrolysate und wiegt, scharf getrocknet, etwa ebensoviel wie das angewandte Chromoproteid.

Digitized by Google

Das nur in Amylalkohol lösliche Pigment ist noch nicht frei von Eiweißbestandteilen. Die salzsaure alkoholische Lösung enthält nach 12 stündigem Stehen das Pigment bereits in verestertem alkali-unlöslichen Zustande. Eine solche Lösung wurde in stark verdünnter Stickstoffatmosphäre bei 40° Badtemperatur eingedampft. Das erhaltene tiefblaue, amorphe Produkt war nun durch die Veresterung größtenteils in Chloroform löslich. Die Bestimmung nach van Slyke ergab noch Aminostickstoff.

Zur Analyse wurde eine Lösung in 40-proc. Eisessig verwandt.

I. 14,18 mg Subst.: 0,450 ccm N (18°, 766 mm).

II. 14,25 mg Subst.: 0,451 ccm N (18°, 766 mm).

Amino-N Gef. 1,84 1,83.

Wird ein solches Produkt nochmals wie oben, doch 3 Stunden, mit konz. Salzsäure behandelt, so fällt bei Verdünnen mit Wasser ein schwarzer Niederschlag („Bilihumin"), der sich in Alkohol mit schwarzvioletter Farbe löst. In konz. Salpetersäure löste er sich rotviolett, die Lösung verfärbte sich rasch über Rotbraun nach Gelb. Im schwach gefärbten Filtrate ist nach Verdampfen der Salzsäure und Aufnehmen in Wasser die Ninhydrinreaktion deutlich positiv.

Der mit Wasser aus der ätherischen Lösung mit rotvioletter Farbe herausgewaschene Anteil ist in salzsaurer Lösung blauviolett gefärbt. Die Absorptionsbanden sind denen des Cyanobilins ähnlich, auch die des Zinkkomplexsalzes, dessen Farbe aber rein blau ist. Der Stoff zersetzte sich ohne ersichtlichen Grund bei der Aufarbeitung zu schmutzigbraunen Flocken.

Methylester des Phycocyanobilins.

Die Veresterung mit Methanol (Kahlbaum pro analysi) geht beim Stehen in 5-proc. methylalkoholischer Salzsäure glatt vonstatten. 11 mg Cyanobilin werden mit einigen Kubikzentimetern der Säure übergossen und bleiben unter Stickstoff 12 Stunden stehen. Die Veresterung ist vollständig; eine 5-proc. Sodalösung extrahiert nichts mehr aus Chloroform. Die Lösung wird in Chloroform gegossen, mit Wasser bis zum Umschlage in die blauviolette Farbe der neutralen Lösung in einem Reagenzglas-Tropftrichterchen[1]) ausgewaschen und in verdünntem Kohlendioxydstrom in der beschriebenen Apparatur bei 30° konzentriert. Durch Versetzen mit Petroläther fällt der Ester amorph. Beim Anreiben erscheinen Nädelchen.

[1]) R. Willstätter und A. Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll, S. 49 (1913).

Digitized by Google

Zur Mikro-Methoxylbestimmung wurde im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd bei 78° getrocknet.

2,630 mg Subst.: 2,07 mg AgJ.

$C_{34}H_{42}N_4O_6(OCH_3)_2$ Ber. OCH_3 9,35 Gef. 10,40.

Wird kein Cadmiumsalz vorgeschaltet, so findet man bei der Methoxylbestimmung eine geringe Schwärzung des AgJ-Niederschlages durch Ag_2S.

Der Methylester ist noch empfindlicher als die freie Säure; auch im Stickstoff-gefüllten Exsiccator verfärbt er sich rasch nach Grün. Das grüne Pigment ist auch mit 10-proc. Salzsäure nicht aus Äther extrahierbar. Der Ester löst sich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln außer Petroläther und Ligroin leicht, auch in Benzol. Farbe und Spektrum der neutralen und salzsauren Lösung (Max. 602 mμ in Chloroform) sind fast die gleichen wie beim Cyanobilin.

Schüttelt man die violette neutrale Chloroformlösung mit einer wäßrigen Kupferacetatlösung, so schlägt die Farbe nach Grün um. Es erscheint das Band mit Maximum 641 mμ der *Kupferkomplexverbindung*, die in Chloroform gelöst bleibt. Vollständig wird die Komplexsalzbildung erst auf Zusatz von etwas Ammoniak. Nach dem Auswaschen mit Wasser, Abdampfen des Chloroforms unter Luftausschluß und Versetzen mit Petroläther fiel das Komplexsalz amorph aus. Beim Verreiben mit Petroläther sind feine Nadeln zu beobachten; es gelang aber nicht, eine völlige Krystallisation zu erreichen. Ein solches Produkt enthielt 7 Proc. Kupfer. Zusatz von Eisessig verändert das Komplexsalz, es tritt eine zweite Bande bei 570—550 mμ auf und die Lösung wird rotviolett, Mineralsäuren bringen das Band im Rot zum Verschwinden.

Das *Zinkkomplexsalz* bildet sich ebenso, in stärkeren Mengen aber erst bei schwach alkalischer Reaktion. Farbe, Fluorescenz und Absorption wie die des Cyanobilin–Zinks. Bei Ansäuern mit Eisessig in Chloroform wird es violett und zeigt die Bande des sauren Esters, behält aber noch seine rote Fluorescenz, die erst auf Zusatz von Wasser verschwindet. Die Komplexsalzbildung tritt auch unter Stickstoff sofort ein.

Digitized by Google

Der Cyanobilin-methylester läßt sich auch direkt durch Spaltung des Chromoproteids in der beim Erythrobilin-methylester beschriebenen Weise erhalten. Doch ist der so erhaltene Ester nicht rein.

Phycoerythrobilin-methylester.

Phycoerythrobilin läßt sich nicht auf demselben Wege darstellen wie das Cyanobilin. Phycoerythrin löst sich im Gegensatze zu Phycocyan nur schlecht in konz. Salzsäure auf und klumpt beim Erwärmen in ihr zusammen. Man kann zwar Lösungen von Phycoerythrin in konz. Salzsäure durch Versetzen einer wäßrigen Chromoproteidlösung mit viel konz. Säure herstellen, braucht aber so eine unverhältnismäßig große Menge der Säure. Außerdem ist die Farbkomponente viel schwerer mit Chloroform aus der wäßrigen Lösung zu extrahieren und es häuft sich im Chloroformextrakt zudem das leicht lösliche Cyanobilin an, das durch eine geringfügige Oxydation bei der Spaltung entsteht.

Werden 0,2 g Phycoerythrin im Stickstoffstrom in 30 ccm konz. Salzsäure $^1/_2$ Stunde auf 85° erwärmt, so extrahieren 10 mal 10 ccm Chloroform nur 5 Proc. der Extinktion bei 495 mμ. Die wäßrige Lösung bleibt rein rotviolett zurück. Die Chloroformlösung ist blauviolett gefärbt. Wie die Absorption der Komplexsalze zeigt, enthält sie durch Cyanobilin verunreinigtes Erythrobilin. Eine längere Spaltung gibt zwar einen größeren chloroformlöslichen Anteil (in 2 Stdn. bei 100° 15 Proc.), zugleich aber zeigt das Sinken der Gesamtextinktion bereits Zersetzungsprozesse an. Noch schlechter waren die Ergebnisse mit 50 proc. Schwefelsäure.

Es wurde daher versucht, durch Spaltung mit methylalkoholischer Salzsäure direkt zum Methylester zu gelangen. Man erhält so ein mit Chloroform extrahierbares Pigment. Auch hier wurden durch spektrophotometrische Bestimmungen der Chloroformlösung die günstigsten Bedingungen der Spaltung ermittelt:

Man erwärmt im Kölbchen mit eingeschliffenem Gaseinleitungsrohr und Kühler 5 g ausgeäthertes Phycoerythrin mit 300 ccm absolut methylalkoholischer 20 proc. Salzsäure im Stickstoffstrome 1 Stunde auf 80—85°, läßt im Stickstoff

Digitized by Google

erkalten und saugt rasch vom ungelöst gebliebenen Eiweiß durch eine poröse Glasfilternutsche mit großer Oberfläche ab. Auf dem Filter bleiben 2,15 g eines schwach rot gefärbten Stoffes zurück, der sich in Wasser glatt löst. Das tief gelbstichig rote Filtrat wird sofort im Scheidetrichter in 250 ccm reines Chloroform gegossen und mit 500 ccm Eiswasser überschichtet. Es wird nun vorsichtig durchgeschüttelt, die wäßrige Lösung nochmals mit wenig Chloroform extrahiert und die Chloroformlösung mehrmals erst mit 5-proc. Salzsäure, dann mit Wasser gewaschen, bis Farbumschlag von Rotviolett nach Braun erfolgt und nichts mehr in die wäßrige Lösung geht. Etwa die Hälfte der Extinktion ist in die Chloroformlösung gegangen, aus der wäßrigen Lösung extrahiert Amylalkohol weitere 40 Proc. (gemessen wird die Extinktion bei 495 mμ in der wäßrigen Lösung). Die wäßrige Phase enthält einen beträchtlichen Teil der Eiweißspaltprodukte, die beim Eindampfen mit dem typischen Geruche der Eiweißhydrolysate zurückbleiben. Eine Probe der Chloroformlösung wird mit 5-proc. Sodalösung geschüttelt; die Veresterung ist vollständig, es geht kein Pigment in die Sodalösung.

Die Lösung in Chloroform wird mit frisch geglühtem Natriumsulfat getrocknet und nach der Filtration im Vakuum und Stickstoff verdampft. Es wird in wenig Chloroform aufgenommen und im oben beschriebenen Apparate aus Chloroform und Ligroin umzukrystallisieren versucht. Man erhält jedoch amorphe Fällungen, die beim Anreiben zwar zuweilen Nädelchen zeigen, aber nicht den Eindruck einer reinen Substanz machen. Etwa dasselbe Ergebnis liefert eine 44 stündige Spaltung mit methylalkoholischer Salzsäure bei Zimmertemperatur.

Die Lösung in salzsaurem Chloroform ist rotviolett mit einem starken Maximum der Absorption bei 495 mμ ($\varepsilon_{sp} = 23{,}8$)[1]) und einem schwächeren bei 575 mμ. Das letztere ist im Verhältnis zum Hauptmaximum höher als bei

[1]) D. Charnas findet für reinstes Urobilin $\varepsilon_{sp}^{495} = 58{,}5$ in alkoholischer Salzsäure.

Digitized by Google

der durch Spaltung mit wäßriger Salzsäure erhaltenen Lösung, aber die Absorption des Zinksalzes beweist, daß das hier nicht auf Beimengungen von Cyanoester beruht. Die neutrale oder ammoniakalische Lösung ist braun, konz. braunrot, die Absorption im Grün ist viel schwächer, das erste Maximum bis auf eine Unstetigkeit verschwunden, aber auch das Hauptmaximum geringer ($\varepsilon_{sp}^{495} = 17{,}6$) und die Absorption im Blau größer.

Das komplexe *Zinksalz* ist rosa mit sehr starker grüner Fluorescenz. Die Absorptionskurve der alkoholischen Lösung zeigt neben dem Hauptmaximum 511—510 mμ ein viel schwächeres bei 590—586 mμ, keine Spur des Cyanobilin–Zink-Maximums bei 632 mμ. Ist jedoch bei der Aufarbeitung, z. B. durch zu langes Stehen an der Luft, eine Oxydation erfolgt, so tritt diese Bande stets mehr oder weniger stark auf. Starkes Ammoniak bringt Fluorescenz und Zinkbande zum Verschwinden und färbt gelb. Das Maximum des violetten Kupferkomplexsalzes liegt bei 517—514 mμ, das zweite Maximum ebenso wie beim Zinksalz. Während das Zinksalz bereits mit verdünnter Mineralsäure wieder zerfällt, scheint das Kupfersalz beständiger. Ca- und Cd-Salze geben keine Fluorescenz und keinen Farbumschlag. Entmischt man die alkoholische Lösung der Komplexsalze mit Wasser und Chloroform, so gehen sie in das letztere.

Der Erythrobilinester ist noch weit unbeständiger als das Cyanobilin. Ohne erkennbare Ursache treten zuweilen Umwandlungen ein. So wurde einmal beim Stehen einer salzsauren Chloroformlösung unter Stickstoff eine Veränderung der rotvioletten Lösung nach Blau beobachtet. Hier lag kein Cyanobilin vor, wie die spektrale Untersuchung zeigte: Neutrale Lösung rotviolett, Hauptbande 497 mμ, schwächere bei 540 mμ. Zinksalz: rein blau mit starker roter Fluorescenz, starkes Band 615—590 und schwächer 510. Bei neutralen Lösungen von Erythrobilin erfolgt keine sichtbare Veränderung beim Stehen, aber allmählich tritt die rotviolette Farbe beim Ansäuern der Lösung nicht mehr ein, die Lösung bleibt braun; ebenso tritt die typische Zinkreaktion nicht mehr so deutlich auf, die

Digitized by Google

Lösung bleibt auf Zinkzusatz braun, die Fluorescenz wird zuerst gelb, dann immer schwächer, über die selektive Absorption lagert sich eine kontinuierliche der kurzen Wellenlängen des Spektrums. Während $^n/_{10}$-Salzsäure aus einer ätherischen Lösung von frischem Erythroester in Äther alles löst, bleibt dann auch mit 10-proc. Salzsäure ein braunes Pigment im Äther.

Zur Analyse wurde der frische Ester bei 78° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

4,420 mg Subst.: 9,98 mg CO_2, 2,79 mg H_2O. — 3,813 mg Subst.: 0,294 ccm N (21°, 751 mm). — 3,568 mg Subst.: 1,619 mg AgJ.

Gef. C 61,6 H 7,06 N 8,85 OCH_3 6,00.

Der im Vergleich zum Cyanobilin niedrige Kohlenstoffgehalt (obwohl hier der Ester, dort die freie Carbonsäure), der Stickstoff- und besonders der niedrige Methoxylgehalt weisen auf Verunreinigung durch Eiweißbestandteile hin. Auch die Ausbeute ist verdächtig hoch. Aus 5 g Phycoerythrin wurden 137 mg = 2,75 Proc. chloroformlösliches Produkt erhalten, die aber nur etwa 45 Proc. der gesamten Extinktion der Spaltprodukte entsprechen. Es ergäbe sich daraus, von dem, was noch im ungelösten Eiweißteil zurückblieb, abgesehen, ein Gehalt von etwa 6 Proc. an der Farbkomponente (gegen 2,3 Proc. beim Phycocyan). Der relativ niedrige Stickstoffgehalt spricht freilich gegen die Annahme einer erheblichen Eiweißbeimengung. Das Produkt war jedenfalls noch nicht einheitlich, es läßt sich in einen in Benzol leicht löslichen und schwer löslichen Anteil zerlegen.

Der erstere ergab zwar den etwa zu erwartenden Methoxylwert aber noch weniger Kohlenstoff.

4,42 mg Subst.: 9,31 mg CO_2, 2,71 mg H_2O. — 4,00 mg Subst.: 2,933 mg AgJ.

Gef. C 57,45 H 6,86 OCH_3 9,68.

Bei der Behandlung hatte sich auch das Pigment schon im oben geschilderten Sinne weiter verändert. Eine Mikrobestimmung nach van Slyke ergab noch einen Gehalt von Aminostickstoff:

8,15 mg Subst.: 0,163 ccm N (18°, 762 mm). Gef. Amino-N 1,03.

Digitized by Google

Das Pigment gibt mit Ehrlich-Reagens (p-Dimethylaminobenzaldehyd) keine Reaktion, das Spektralbild bleibt unverändert. Auch mit Diazobenzolsulfosäure wird kein Azofarbstoff gebildet. Wird eine Lösung von Erythrobilinester in Chloroform mit einer Lösung von einer Spur Nitrit in verdünnter Schwefelsäure geschüttelt, so verfärbt sie sich nur rotviolett, rotgelb, gelb.

Reduktion des Phycocyanobilins.

20 mg Cyanobilin werden im Schliffgefäß mit Gaseinleitungsrohr im Stickstoffstrom mit 8 ccm Wasser übergossen und 0,5 g 4-proc. Natriumamalgam zugefügt. Es wurde nun geschüttelt und von Zeit zu Zeit die gebildete Natronlauge durch Einleiten von Kohlendioxyd neutralisiert. Nach 4 Stunden war die Lösung grün gefärbt. Es wurde unter Durchleiten von Stickstoff nochmals die gleiche Menge Natriumamalgam zugegeben. Nach 20stündigem Schütteln war die Lösung nur noch schwach rotbraun, nach Neutralisieren mit verdünnter Schwefelsäure schwach orange gefärbt. Sie gab mit Ehrlichs Reagens eine intensive Rotfärbung. Hauptmaximum 559, schwächeres bei 491 mμ. Von einem geringen grünlichen Niederschlage wurde abfiltriert. Die wäßrige Lösung wurde unter Kohlendioxyd mit Chloroform extrahiert. Aus der Lösung fällte Petroläther orange gefärbte Flocken, die intensive Urobilin-Reaktion gaben. Die nur noch schwach gefärbte Lösung wurde im Vakuum und Stickstoffstrom eingedunstet, in Essigester aufgenommen und durch Zusatz von Petroläther nochmals von wenigen orange Flocken befreit. Das beim Eindunsten erhaltene fast farblose Produkt oxydierte sich rasch an der Luft und färbte sich orangerot, später dichroitisch braungrün; die Urobilin-Reaktionen waren dann positiv.

Reduktion von Phycocyanobilin mit Jodwasserstoff–Eisessig.

50 mg Cyanobilin wurden in 1,5 ccm eines Gemisches von 1 Teil HJ (1,96) und 2 Teilen Eisessig 24 Stunden in kräftig siedendem Wasserbade erhitzt. Nach Reduktion des

Digitized by Google

Jods mit Phosphoniumjodid wurde im Vakuum abgedunstet und in Sodalösung aufgenommen. Die Wasserdampfdestillation lieferte ein eigenartig riechendes Destillat, das schwache, aber deutliche Ehrlich-Reaktion gab (Band 555—535 mμ). Zur Sicherheit wurde nochmals mit Wasserdampf destilliert; wieder war die Reaktion im Destillat deutlich positiv.

Der Rückstand wurde mit Salzsäure angesäuert und von braunen Flocken abfiltriert. Er gab starke Ehrlich-Reaktion (Band 565—550). Ein Versuch, Bilirubinsäure und Kryptopyrrolcarbonsäure nach H. Fischers[1]) Methoden zu isolieren, führte wegen der zu geringen Mengen zu keinem Resultat.

Untersuchungen über pflanzliche Fisch- und Insektengifte. II.[2])

2. Mitteilung über Rotenon, den physiologisch wirksamen Bestandteil der Derris elliptica;

Von *A. Butenandt* und *F. Hildebrandt.*

[Aus dem Allgem. Chem. Univ.-Lab. Göttingen.]

(Eingelaufen am 6. Dezember 1929.)

In der 1. Mitteilung über Rotenon, den Inhaltsstoff der als Fisch- und Insektengift verwendeten Derriswurzel, wurden die Ergebnisse der bis dahin durchgeführten Versuche in bezug auf die Konstitution des Gesamtmoleküls in folgendem zusammengefaßt: Rotenon besitzt die Formel $C_{23}H_{22}O_6$. Von den 6 Sauerstoffatomen liegen 2 als OCH_3-Gruppen, 1 als Ketosauerstoff und 2 in einer Lactongruppe vor. 1 Sauerstoffatom ist anscheinend oxydisch gebunden. Das optisch aktive Molekül enthält eine leicht hydrierbare Doppelbindung, bei energischer Hydrierung wird (neben der Bildung einer Carbonsäure $C_{23}H_{26}O_6$ auch die Keto-

[1]) H. 72, 391 (1912).

[2]) 1. Mitteilung: A. 464, 253 (1928).

Digitized by Google

gruppe zur Methylengruppe reduziert; das „Dihydro-desoxy-rotenon“ $C_{23}H_{26}O_5$ stellt das Endprodukt der Hydrierung dar; aus dem Wasserstoffgehalt dieses Stoffes könnte man auf das Vorhandensein von 2 aromatischen Kernen schließen. Durch Behandlung mit Alkali gelingt die Spaltung des Rotenons zu einer Phenol-carbonsäure $C_{12}H_{12}O_4$, der „Tubasäure“. Diese Spaltung findet an der Ketogruppe statt, die daher in der Mitte des Moleküls stehen muß. Bemerkenswert waren die Feststellungen, daß Rotenon eine leicht zur Carbonylgruppe oxydierbare Methylengruppe enthält (Bildung von „Rotenonon“ $C_{23}H_{20}O_7$), daß 2 Kohlenstoffatome in einer Bindungsart vorliegen, die ihre Abspaltung bei alkalischer Reduktion unter Bildung eines Phenols $C_{21}H_{22}O_6$ („Derritol“) erlaubt, und daß eine Atomgruppierung vorhanden ist, der man sehr leicht 2 Wasserstoffatome entziehen kann; das dabei entstehende „Dehydrorotenon“ $C_{23}H_{20}O_6$ wird durch Behandeln mit Alkali unter Aufnahme von 2 Mol Wasser zu einer Oxy-keto-carbonsäure $C_{23}H_{24}O_8$ („Derrissäure“) aufgespalten.

Unsere Kenntnis des komplizierten Molekülbaues ist im letzten Jahre durch einige bemerkenswerte Arbeiten erweitert worden. T. Kariyone[1]) und S. Takei[2]) untersuchten die bei der alkalischen Spaltung des Rotenons entstehende *Tubasäure* $C_{12}H_{12}O_4$ und ihr Isomeres, die *Rotensäure*. F. B. La Forge und L. E. Smith[3]) veröffentlichten interessante Ergebnisse über Reduktionsversuche am Rotenon, während G. M. Wright[4]) die von anderer Seite dargestellten Derivate nochmals nachgeprüft und um einige neue vermehrt hat.

Von unseren eigenen Versuchen wollen wir diejenigen veröffentlichen, die sich durch das Studium der ursprünglich von Takei beobachteten Isomerie des Rotenons ergeben

---

[1]) T. Kariyone, K. Kondo u. K. Makabe, Journ. of the Pharm. Soc. of Japan 557, 48 (1928).

[2]) S. Takei, S. Miyajima u. M. Koide, Bull. of the Inst. of Phys. and Chem. Res. 8, 6, 61 ff. (1929); B. 62, 3030 (1929).

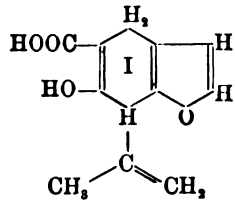
[3]) Journ. of Amer. Chem. Soc., 51, 2574 (1929).

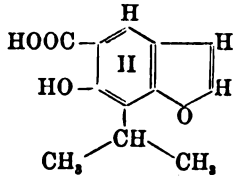
[4]) Journ. of Amer. Chem. Soc., 50, 3355 (1928).

Digitized by Google

haben, da wir glauben, daß sie insbesondere die Ergebnisse der japanischen Forschungen an der Tuba- und Rotensäure ergänzen.

Takei diskutiert in seiner letzten Veröffentlichung[1]) für die durch Alkalispaltung des Rotenons entstehende *Tubasäure* die Formel I, die auf Grund der Ergebnisse von Oxydationsversuchen mit Ozon und mit Hypojodit aufgestellt wurde.[2]) Durch Alkalischmelze entsteht aus Tubasäure die isomere *Rotensäure*, der Takei Formel II zuerteilt.[3])





Diese Formeln sollen folgende Befunde erklären: 1. Die optische Aktivität der Tubasäure verschwindet bei der Isomerisierung zur Rotensäure. 2. Eine in der Tubasäure nachzuweisende Doppelbindung hat in der Rotensäure ihre leichte Hydrierbarkeit verloren. 3. In der Rotensäure und Dihydro-tubasäure läßt sich eine Isopropylgruppe durch Oxydation zu Isobuttersäure nachweisen, in der Tubasäure nicht. 4. Dihydro-tubasäure läßt sich nicht isomerisieren.

Die vorliegende Isomerie ist also durch Verschiebung einer Doppelbindung gedeutet.

Isomere Rotenonderivate und ihre Beziehungen zu Tuba- und Rotensäure.

Unabhängig von Takeis Arbeiten sind wir beim Studium des Iso-rotenons zu einem ähnlichen experimentellen Er-

[1]) a. a. O.

[2]) Kariyone glaubt auf Grund seiner Ozonoxydation der Tubasäure an das Vorhandensein einer Vinylgruppe: $CH_2=CH-C_9H_7.OH.COOH$ (a. a. O.).

[3]) Die decarboxylierte Rotensäure nennt Takei „Rotenol", trotzdem dieser Name für das Zink-Alkali-Reduktionsprodukt des Rotenons bereits vergeben war. In vorliegender Arbeit ist diese ältere Bezeichnung beibehalten.

Digitized by Google

gebnis in bezug auf die Ursache der Isomerie am ganzen Rotenon-Molekül gekommen.

Rotenon läßt sich durch Behandlung mit konz. Schwefelsäure isomerisieren. *Iso-rotenon*, das nach Takeis Untersuchungen nicht giftig sein soll, unterscheidet sich chemisch vom Rotenon in folgendem: 1. Entgegen der stark negativen Drehung des Rotenons zeigt Isorotenon eine schwach positive Drehung. 2. Die überraschend leichte Addition von Wasserstoff und Salzsäure an die im Rotenon vorhandene Doppelbindung ist im Iso-rotenon verschwunden.

Die Beziehungen zwischen Rotenon und Iso-rotenon gewinnen durch folgende Befunde an Bedeutung für die Kenntnis der Tuba- und Rotensäure:

1. Wie aus Rotenon durch alkalische Spaltung Tubasäure entsteht, so gewinnt man aus Iso-rotenon durch Behandlung mit 10-proc. alkoholischer Kalilauge *Rotensäure*. 2. Tubasäure wird durch Behandlung mit konz. Schwefelsäure in derselben Weise zur Rotensäure isomerisiert wie Rotenon zu Iso-rotenon.

Hiermit ist gezeigt, daß die Isomerie zwischen Rotenon und Iso-rotenon (und ihren Derivaten) auf gleichen Ursachen beruht, wie die Isomerie zwischen Tuba- und Rotensäure, daß also die Befunde der Isomeriestudien am ganzen Molekül auf die Spaltprodukte übertragen werden können und umgekehrt.

Es scheint gesichert, daß die Isomerisierung mit konz. Schwefelsäure auf der Verschiebung einer Doppelbindung beruht; die Doppelbindung wird so verlagert, daß eine Isopropyl-gruppe[1]) entsteht und ein Asymmetriezentrum verschwindet. Diese Isomerisierung durch Schwefelsäure konnte außer an Rotenon und Tubasäure an einer Reihe von Derivaten studiert werden: Läßt man Oxydationsmittel, z. B. Jod auf Rotenon einwirken, dann verliert es ein Mol

[1]) Den Nachweis der Isopropyl-gruppe führte Takei in der Roten- und Dihydro-tubasäure; wir haben bei einmaliger Oxydation von Iso-rotenon mit $KMnO_4$ keine Isobuttersäure zu fassen vermocht; dieser Befund steht aber in Einklang mit den Angaben Takeis, daß auch Methyl-rotensäure nur Essigsäure liefert.

Digitized by Google

Wasserstoff und geht in *Dehydro-rotenon* $C_{23}H_{20}O_6$ [1]) über. Durch Behandlung mit alkoholischer Kalilauge entsteht daraus eine Oxy-keto-carbonsäure $C_{23}H_{24}O_8$, die wir *Derrissäure* [2]) nennen wollen. Derrissäure liefert ein Oxim und ein Mono-acetyl-derivat.

Entsprechende Derivate liefert Iso-rotenon: Wird es mit Jod dehydriert, so entsteht ein *Iso-dehydro-rotenon* $C_{23}H_{20}O_6$ vom Schmelzp. 191°, dessen Oxim dargestellt wurde. Beim Behandeln von Iso-dehydro-rotenon mit alkoholischer Kalilauge erhält man eine Oxy-keto-carbonsäure $C_{23}H_{24}O_8$ vom Schmelzp. 149°, die *Iso-derris-säure.* Sie liefert ebenfalls ein gut krystallisiertes Oxim und ein Mono-acetyl-derivat. Iso-derris-säure ist gegen Alkali beständig, sie wird selbst bei Einwirkung von alkoholischer Kalilauge im Bombenrohr bei 150° nicht mehr verändert.

Es ist nun gelungen, durch Behandeln mit konz. Schwefelsäure *Dehydro-rotenon* in *Iso-dehydro-rotenon* und *Derris-säure* in *Iso-derris-säure* umzulagern. Daraus geht hervor, daß die bei der Umwandlung von Rotenon in Isorotenon beteiligte Atomgruppierung in allen diesen Derivaten wie in der Tubasäure vorhanden ist. Die hier aufgestellten Beziehungen gehen aus umstehender Tabelle hervor.

Optische Untersuchungen in der Rotenon- und Isorotenon-reihe.

Die Untersuchung der optischen Eigenschaften in der Rotenon- und Iso-rotenon-reihe ergab ein bemerkenswertes Bild. *Rotensäure* war von allen bisher bekannten Derivaten des Rotenons der einzige optisch inaktive Stoff. Alle übrigen Derivate und Spaltprodukte (auch Derritol und Anhydro-derritol) sind optisch aktiv.

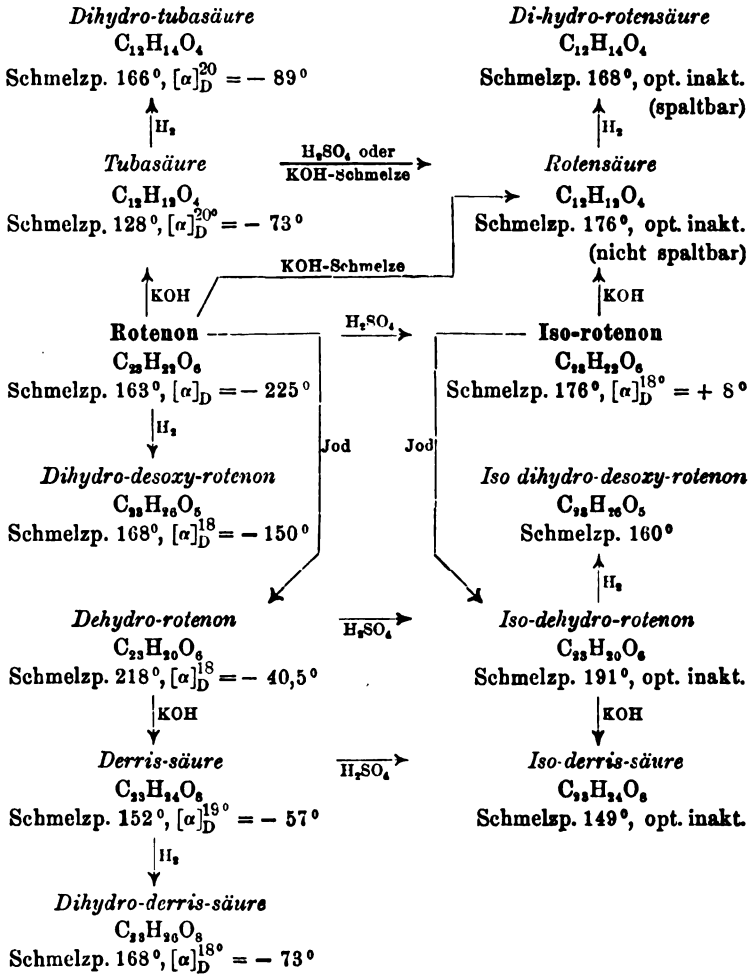
Es fand sich nun, daß außer Rotensäure auch die übrigen Derivate des Iso-rotenons, das *Iso-dehydro-rotenon* und die *Iso-derris-säure* optisch inaktiv sind. *Iso-rotenon* hat eine schwach positive Drehung.

---

[1]) A. **464**, 271 (1928). [2]) A. **464**, 272 (1928).

Digitized by Google

Übersichtstabelle.



Die nähere Untersuchung dieser Befunde läßt Schlüsse zu über die Anzahl der im Rotenon vorhandenen Asymmetriezentren, über ihre Lage im Molekül und über die Konstitution der Tuba- und Roten-säure.

Beim Übergang von Tubasäure in Rotensäure verschwindet ein Asymmetrizentrum: Rotensäure ist optisch

Digitized by Google

inaktiv; daß dieser Befund nicht auf einer erfolgten Racemisierung beruht, konnten wir experimentell sicherstellen: Das schön krystallisierende Brucinsalz der Rotensäure mit der konstanten optischen Drehung $[\alpha]_D^{17^0} = +18^0$ liefert nach der Spaltung reine optisch inaktive Rotensäure zurück. In der Rotensäure liegt also kein asymmetrisches Kohlenstoffatom mehr vor. Da die Isomerie zwischen Rotenon und Iso-rotenon auf den gleichen Ursachen beruht wie die Isomerie zwischen Tubasäure und Rotensäure, muß auch beim Übergang von Rotenon in das (noch optisch aktive) Iso-rotenon ein Asymmetriezentrum verschwinden.

Bei der Dehydrierung von Iso-rotenon entsteht nun das *optisch inaktive* Iso-dehydro-rotenon, welches ebenfalls aus dem optisch aktiven Dehydro-rotenon durch Behandeln mit konz. Schwefelsäure zu erhalten ist. Ebenfalls optisch inaktiv ist das Alkali-Aufspaltungsprodukt des Iso-dehydro-rotenons, die Iso-derrissäure, die auch mit konz. Schwefelsäure aus der optisch aktiven Derris-säure entsteht. Diese Befunde besagen aber, daß bei der Dehydrierung des Rotenons ebenfalls ein Asymmetriezentrum verschwindet.[1]) Dehydrierung und Isomerisierung gemeinsam führen zu optisch inaktiven Stoffen. Im Rotenon sind also 2 Asymmetriezentren vorhanden.[2])

Dieser Befund zeigt aber zugleich, daß das 2. Asymmetriezentrum in der noch nicht gefaßten 2. Molekülhälfte des Rotenons zu suchen ist, daß also die Dehydrierung im 2. Molekülteil und nicht am Tuba- oder Rotensäure-skelett einsetzt.

---

[1]) Daß bei der Dehydrierung tatsächlich ein Asymmetriezentrum verschwindet und die optische Inaktivität von Iso-dehydro-rotenon und Iso-derris-säure nicht etwa nur auf Kompensation beruht, ist sehr wahrscheinlich. Den experimentellen Beweis in einem Spaltungsversuch der Iso-derris-säure zu führen, haben wir versucht. Leider lieferte uns diese Säure aber kein gut krystallisierendes Alkaloidsalz.

[2]) Maximal sind es 4, wenn man die Annahme machen will, daß die beiden Doppelbindungen jeweils zwischen 2 Asymmetriezentren eintreten.

Digitized by Google

Hydrierungen in der Rotenon- und Iso-rotenonreihe.

Rotenon wird in *saurer* Lösung mit Platinkatalysator zu *Dihydro-rotenon*[1]) oder *Dihydro-desoxy-rotenon* $C_{23}H_{26}O_5$[2]) hydriert, in ammoniakalischer Lösung entsteht in quantitativer Ausbeute eine Carbonsäure $C_{23}H_{26}O_6$.[3]) Reduktionsprodukte von saurem Charakter stellte kürzlich La Forge auch durch Hydrierung in *neutraler* Lösung nach Adams-Shriner dar; daneben entsteht bis zu 50 Proc. Dihydro-rotenon[4]). Die Bildung saurer Reaktionsprodukte durch katalytische Hydrierung deutet auf das Vorhandensein einer sehr leicht spaltbaren Lactongruppe hin.[5])

Dehydro-rotenon liefert bei der Hydrierung mit Platin in Eisessiglösung ein Gemisch von Hydrierungsprodukten, aus dem wir keine einheitliche Krystallfraktion abtrennen konnten. — Derris-säure ist leicht zu *Dihydro-derris-säure*[6]) hydrierbar, enthält also noch — wie die Tubasäure — die leicht hydrierbare Doppelbindung.[7])

Iso-rotenon und seine Derivate unterscheiden sich von der Rotenonreihe durch ihre schwerere Hydrierbarkeit. Bei milder Hydrierung bleiben sie unverändert; bei energischer Hydrierung haben wir aber sämtliche Derivate zu hydrieren vermocht, doch führten die Hydrierungen zumeist zu schwer trennbaren Gemischen, die bisher nur z. T. eingehend untersucht wurden. Als wichtige Befunde seien genannt: 1. *Rotensäure* liefert — entgegen den Angaben

---

[1]) A. **464**, 266 (1928) — Auf die Unstimmigkeit in bezug auf die Schmelzpunktsangaben nach La Forge (a. a. O.) vgl. die Schlußbemerkung im exp. Teil.

[2]) A. **464**, 266 (1928). [3]) A. **464**, 267 (1928).

[4]) Die Hydrierungsergebnisse wechseln mit dem Charakter des angewandten Lösungsmittels.

[5]) Eine ähnliche Beobachtung machte W. Borsche am Methysticin, dessen ungesättigter δ-Lactonring leicht durch katalytische Hydrierung in neutraler Lösung zu öffnen ist. B. **62**, 360 (1929). Zwei weitere Beispiele vgl. Mannich, B. **62**, 461 (1929).

[6]) A. **464**, 273 (1928).

[7]) Über ein interessantes Hydrierungsprodukt der Derrissäure vom Schmelzp. 211° und über ein solches des Iso-rotenons vom Schmelzpunkt 167°, deren Untersuchung nicht abgeschlossen ist, vgl. exp. Teil.

Digitized by Google

von Takei — *Dihydro-rotensäure* $C_{12}H_{14}O_4$ vom Schmelzpunkt 168°, 2. *Iso-dehydro-rotenon* liefert ein *Iso-dihydro-desoxy-rotenon* $C_{23}H_{26}O_5$ vom Schmelzp. 160°, 3. bei der Hydrierung von Iso-rotenon und Iso-dehydro-rotenon in Eisessiglösung vermochten wir auch das Auftreten von geringen Mengen saurer Reaktionsprodukte zu erkennen.

Die Hydrierungen zeigen, daß zwar die große Leichtigkeit, mit der die Seitenketten–Doppelbindung im Rotenon, in der Derris- und in der Tubasäure hydriert wird, verschwunden ist, doch ist durch die Darstellung von Iso-dihydro-desoxy-rotenon und Dihydro-rotensäure wahrscheinlich gemacht, daß die Doppelbindung noch vorhanden, daß sie nur nach ihrer Verlagerung schwerer hydrierbar ist. Es war aber auch denkbar, daß in den Hydrierungsprodukten der Iso-rotenonreihe eine andere Doppelbindung hydriert war, die sich bisher einer Hydrierung entzogen hatte; so schließt z. B. Takeis Rotensäureformel (II) das Entstehen einer Dihydro-rotensäure nicht aus. Doch zeichnet sich die ursprüngliche Doppelbindung *nach ihrer Verlagerung* durch ein besonderes Kennzeichen aus: da sie Anlaß gab zum Verschwinden eines Asymmetriezentrums, so muß bei ihrer katalytischen Hydrierung dieses Asymmetriezentrum wieder entstehen. Diese Überlegung fordert für die Hydrierungsprodukte der Isoreihe das Auftreten von Dia-stereo-isomeren am hydrierten Iso-rotenon, für die Rotensäure ein racemisches Dihydro-derivat, das also in optische Antipoden spaltbar sein muß. Das Experiment zeigte, daß die *Dihydro-rotensäure* mit Hilfe ihres gut krystallisierenden Brucinsalzes *in optische Antipoden zerlegt werden kann.* Das uns zur Verfügung stehende Material war ausreichend, um die Spaltbarkeit absolut sicher zu stellen, es reichte nicht aus, um eine der optisch aktiven Komponenten völlig rein zu isolieren. Aus dem experimentellen Teil sind Einzelheiten ersichtlich; die erhaltene Krystallfraktion der Linkskomponente zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D^{18°} = -23{,}2°$ und einen Schmelzpunkt von 165—167°. Nach unseren gegenwärtigen Anschauungen möchten wir glauben, daß es gelingen wird, durch Spaltung der Dihydro-rotensäure zur Dihydro-tuba-

Digitized by Google

säure zu kommen; damit würde sicher gezeigt sein, daß in der Tubasäure und Rotensäure dasselbe Kohlenstoffskelett vorhanden ist und sie sich nur durch die Lage der Doppelbindung unterscheiden.

Die reduktive Alkalispaltung des Rotenons und Iso-rotenons.

Es war gezeigt, daß Rotenon durch Behandeln mit Zinkstaub und Alkali neben *Rotenol* $C_{23}H_{24}O_6$ ein um 2 Kohlenstoffatome ärmeres Phenol $C_{21}H_{22}O_6$, das *Derritol*, liefert.[1]) La Forge und Smith[2]) machten die Beobachtung, daß ein entsprechendes *Dihydro-derritol* $C_{21}H_{24}O_6$ aus Dihydro-rotenon und ein *Iso-derritol* $C_{21}H_{22}O_6$ aus Iso-rotenon darstellbar ist. Daraus folgern sie mit Recht, daß die Doppelbindung für die Abspaltung der zwei Kohlenstoffatome nicht maßgeblich ist. Wird die Doppelbindung in der Seitenkette angenommen und ihre Verschiebbarkeit als Ursache der Isomerisierung angesehen, so ist von vornherein ihre Beteiligung an der Zink–Alkalispaltung ausgeschlossen. Es war auch früher schon betont, daß Schlüsse über die Bedeutung der Doppelbindung für diese Reaktion nicht zu ziehen sind; daß eine hydrolytische Abspaltung der 2 Kohlenstoffatome an einer — vielleicht intermediär entstehenden — Doppelbindung vorliegt, ist wohl dennoch wahrscheinlich.

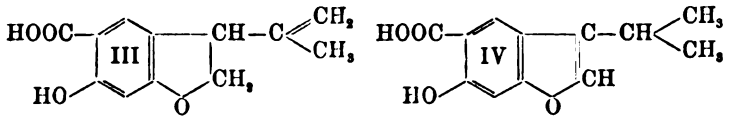
Diskussion der Ergebnisse.

In der Tubasäure ist mit 12 Kohlenstoffatomen die Hälfte des Rotenonmoleküls gefaßt. Die Formel I von Takei erklärte gemeinsam mit Formel II für Rotensäure wichtige experimentelle Befunde. Nur die Ergebnisse der katalytischen Hydrierung standen von vornherein mit der 4 Doppelbindungen enthaltenden Formel I nicht im Einklang: Tubasäure läßt sich über Dihydro-tubasäure hinaus nicht hydrieren; andrerseits vermochte Kariyone interessanterweise die OH-Gruppe der Dihydro-tubasäure durch Chlor zu ersetzen; dieses Chloratom ist durch Reduktion gegen

[1]) A. **464**, 275 (1928). [2]) a. a. O.

Digitized by Google

Wasserstoff austauschbar, ohne daß weitere Doppelbindungen angegriffen werden; auch in dieser Reaktionsfolge ist die große Widerstandsfähigkeit der Doppelbindungen gegen Reduktionsmittel in Takeis Tubasäureformel schwer verständlich. In der vorliegenden Arbeit ist gezeigt, daß 1. das dehydrierbare System des Rotenons nicht im Tubasäureskelett zu suchen ist und 2. die Dihydro-rotensäure in optische Antipoden spaltbar ist. Dieses Verhalten ist durch die von Takei vorgeschlagenen Formeln nicht zu erklären, ihre Unhaltbarkeit damit also bewiesen. Wir glauben, daß der Formeltyp III für Tubasäure und ein entsprechender für Rotensäure (IV) allen Anforderungen zur Deutung der experimentellen Ergebnisse Genüge leistet.[1])



Über den 2. Teil des Rotenonmoleküls haben wir erst geringe Kenntnis. Er enthält 1. 2 OCH_3-Gruppen, 2. eine leicht zur Carbonylgruppe oxydierbare Methylengruppe (Bildung von Rotenonon)[2]), 3. eine Atomgruppierung, welche leicht 2 Wasserstoffatome abspaltet und 4. ein bei dieser Dehydrierung verschwindendes Asymmetriezentrum.

Bemerkenswert ist die leichte Oxydierbarkeit des zweiten Molekülteils, ein Verhalten, welches das Vorhandensein eines zweiten Benzolringes ohne Sauerstoffverknüpfung wohl sicher ausschließt. Die Annahme eines Dihydro-benzol-Ringes mit ungesättigter Seitenkette oder ähnliche Gruppierungen, mit deren Hilfe man gefundene Reaktionen deuten könnte, stehen wiederum im Widerspruch mit den Ergebnissen der Hydrierungen; auch kann es sich bei der Dehydrierungs-Reaktion nicht um die Bildung eines aromatischen Kerns handeln, denn Dehydro-rotenon und Iso-dehydro-rotenon geben bemerkenswerterweise — im Gegensatz zu Rotenon, Iso-rotenon

[1]) Über leichten Ersatz des Phenol-hydroxyls durch Chlor mit PCl_5 vgl. z. B. B. 6, 1090 (1873).

[2]) A. 464, 268 (1928).

Digitized by Google

und Derrissäure — nach der Methode von O. Diels[1]) mit Malein-säure-anhydrid ein Kondensationsprodukt. Dieser Befund zeigt die Reaktionsfähigkeit der neu entstandenen Doppelbindung und daß sie in Konjugation steht zu einer schon vorhandenen, welche sicher von derjenigen verschieden ist, welche die besprochene Isomerieerscheinung bedingt. Durch das Verfolgen dieser Reaktion und durch das Studium von Oxydationsreaktionen an den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Derivaten des Rotenons und Iso-rotenons erhoffen wir eine Klärung über den Bau der 2. Molekülhälfte. Von einer rein hypothetischen Betrachtung ihrer Konstitution möchten wir gegenwärtig noch Abstand nehmen.

Schon in der 1. Mitteilung über Rotenon wurde auf physiologisch ähnlich wirkende Stoffe hingewiesen; wie in der Überschrift vorliegender Arbeit angedeutet ist, sind andere pflanzliche Giftstoffe mit ähnlicher physiologischer Wirkung in den Kreis der chemischen Untersuchung einbezogen worden.

Der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel, danken wir verbindlichst für das uns zur Verfügung gestellte krystallisierte Rotenon.

Beschreibung der Versuche.

Iso-rotenon.[2])

1 g Rotenon wird möglichst schnell in 15 ccm reiner konz. Schwefelsäure gelöst. Die Lösung wird darauf unter Umschütteln in 300 ccm Wasser eingegossen. Dabei scheidet sich das Iso-rotenon ab. Es wird filtriert und aus Alkohol umkrystallisiert. Schmelzp. 176°.[3]) Ausbeute 60—70 Proc. der Theorie.

Optische Drehung: 0,0393, 0,0291, 0,0291 g Subst., in je 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm;

$$\alpha = +0{,}16°;\ +0{,}11°;\ +0{,}12°$$
$$[\alpha]_D^{18°} = +8{,}16°;\ +7{,}59°;\ +8{,}27°.$$

[1]) O. Diels u. K. Alder, A. **460**, 102 (1928) u. f.
[2]) Takai, B. **61**, 1003 (1928).
[3]) Vgl. Angaben S. 267; alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Digitized by Google

Mit Äthylnitrit und Salzsäure liefert Iso-rotenon ein Iso-rotenonon. Zersetzungsp. 254°.[1])

5,120 mg Subst.: 12,670 mg CO_2, 2,02 mg H_2O, 0,013 mg Rest.

$C_{23}H_{20}O_7$	Ber.	C 67,61	H 4,93
	Gef.	„ 67,66	„ 4,42.

Alkalispaltung des Iso-rotenons.

5 g Iso-rotenon werden mit 75 ccm Äthanol und 50 ccm 10-proc. äthylalkoholischer Kalilauge 3 Stunden unter Durchleiten von Wasserstoff auf dem Wasserbad gekocht. Die dunkelrot gefärbte Lösung wird nach dem Erkalten mit verdünnter Salzsäure angesäuert, mit Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Der Ätherauszug wird in saure, phenolische und neutrale Anteile getrennt.[2])

Nach dem Trocknen wird die Ätherlösung der sauren Anteile auf ein kleines Volumen eingeengt und heiß mit hochsiedendem Petroläther versetzt. Nachdem der restliche Äther durch weiteres Abdampfen vertrieben ist, wird heiß filtriert. Beim Erkalten scheiden sich aus der Petrolätherlösung weiße Krystallnädelchen ab. Aus der Mutterlauge und dem Filtrationsrückstand wird eine zweite Portion erhalten. Rohausbeute: etwa 0,20 g. Die Säure zeigt, aus hochsiedendem Petroläther umkrystallisiert, den Schmelzpunkt 176°.[3]) Sie ist optisch inaktiv und mit Rotensäure identisch. Mischschmelzp. 176°.

4,841 mg Subst.: 11,510 mg CO_2, 2,42 mg H_2O.

$C_{13}H_{12}O_4$	Ber.	C 65,43	H 5,50
	Gef.	„ 64,84	„ 5,59.

Thalliumsalz der Säure. 0,05 g Säure werden mit $^n/_{10}$-Natronlauge neutralisiert und 0,1 g Thalliumnitrat versetzt. Nach Zugabe von etwas Wasser wird aufgekocht und heiß filtriert. Beim Erkalten scheidet sich das Thalliumsalz in langen, weißen Nadeln ab. Es wird aus Wasser umkrystallisiert. Schmelzp. 202,6°.

---

[1]) Vgl. A. **464**, 268 (1928).

[2]) In den neutralen und in den phenolischen Anteilen finden sich krystallisierende Stoffe, deren Untersuchung noch aussteht.

[3]) Vgl. Angaben S. 267; alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Digitized by Google

Behandlung von Tubasäure mit konz. Schwefelsäure.

0,1 g Tubasäure wird innerhalb 2 Minuten in 1,5 ccm reiner konz. Schwefelsäure gelöst und dann unter Umschütteln in 200 ccm Wasser eingegossen. Die wäßrige Suspension wird mit Äther extrahiert. Nach dem Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung hinterbleibt ein weißer, krystallisierter Stoff. Er wird aus hochsiedendem Petroläther umkrystallisiert. Schmelzp. 176°. Die Säure ist optisch inaktiv. Mischschmelzpunkt mit der durch Alkalispaltung von Iso-rotenon erhaltenen Säure 175°. Mischschmelzpunkt mit Rotensäure 176°; Thalliumsalz: Schmelzp. 202,5°. Mischschmelzpunkt der beiden Thalliumsalze 202,2°.

Spaltungsversuch der Rotensäure mit Brucin.

Physikalische Konstanten des verwandten Brucins. Schmelzpunkt 174,2°.

0,0195 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm, $\alpha = -1{,}13°$;

$$[\alpha]_D^{17°} = -116{,}5°.$$

Brucinsalz der Rotensäure. 0,1 g Rotensäure wurde in 10 ccm Wasser suspendiert und mit $^n/_{10}$-Natronlauge neutralisiert. Zu der Lösung wurde eine wäßrige Lösung von Brucinhydrochlorid, dargestellt durch Neutralisieren von 0,18 g Brucin mit verdünnter Salzsäure, hinzugefügt und aufgekocht. Dabei schied sich das Umsetzungsprodukt krystallin ab und wurde nach dem Erkalten filtriert. Rohausbeute 0,22 g. Das Brucinrotenat wurde bis zur konstanten Drehung aus Aceton–Petroläther umkrystallisiert. Schmelzp. 202°.

0,0232, 0,0190 g Subst., in je 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm, $\alpha = +0{,}21°$, $+0{,}17°$;

$$[\alpha]_D^{17°} = +18{,}10°;\ +17{,}90°.$$

Isolierung der Säure. Das Brucin-rotenat wurde mit konz. Ammoniak versetzt und über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Dabei schied sich das Brucin krystallin ab und konnte filtriert werden. Die ammoniakalische Mutterlauge wurde mit verdünnter Salzsäure ausgesäuert und mit

Digitized by Google

Äther extrahiert. Nach dem Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung hinterblieb ein krystallierter Stoff. Er wurde aus hochsiedendem Petroläther umkrystallisiert. Schmelzp. 179°. Mischschmelzpunkt mit Rotensäure 179°. Die Säure ist optisch inaktiv.

Hydrierung der Rotensäure.

a) Mit Platinschwarz[1]): 0,05 g Rotensäure werden in Eisessiglösung mit nach Fokin-Willstätter bereitetem Platinkatalysator in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme wird der Eisessig im Vakuum verdampft. Es hinterbleibt ein schwach gefärbtes Harz, das beim Erkalten krystallisiert. Die erhaltene *Dihydro-rotensäure* wird zunächst aus Eisessig–Wasser, dann aus hochsiedendem Petroläther umkrystallisiert. Schmelzp. 168°. Mischschmelzpunkt mit Rotensäure 162—163°. Die Säure ist in Natriumcarbonatlösung löslich und gibt mit Eisenchloridlösung die Phenolreaktion.

2,236, 4,397 mg Subst.: 5,325, 10,440 mg CO_2, 1,34, 2,53 mg H_2O.

$C_{12}H_{14}O_4$	Ber. C 64,85	H 6,35
	Gef. „ 64,95, 64,75	„ 6,71, 6,44.

b) Mit Palladiumschwarz: 0,1 g Rotensäure werden mit Palladiumschwarz in äthylalkoholischer Lösung in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nachdem die einem Mol entsprechende Menge Wasserstoff aufgenommen ist, kommt die Hydrierung praktisch zum Stillstand. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels im Vakuum hinterbleibt Dihydro-rotensäure. Schmelzp. 168°.

Spaltungsversuch der Dihydro-rotensäure mit Brucin in die optischen Antipoden.

Die wäßrige Suspension von 0,09 g Dihydro-rotensäure wurde mit $^n/_{10}$-Natronlauge neutralisiert. Zu der heißen Alkalisalzlösung wurde die äquivalente Menge Brucinhydrochlorid in wäßriger Lösung, dargestellt durch Neutralisieren von 0,16 g Brucin mit verdünnter Salzsäure,

[1]) Wird Rotensäure in Gegenwart von Platinoxydkatalysator nach Adams-Shriner hydriert, dann wird ein nicht krystallisierendes, helles Harz erhalten.

Digitized by Google

hinzugesetzt und aufgekocht. Beim Erkalten schied sich ein klebriges, an den Kolbenwandungen haftendes Produkt ab. Die überstehende, klare Lösung wurde dekantiert und der Kolbeninhalt im Vakuum getrocknet. Beim Versetzen mit Aceton erhielt man das Brucinsalz krystallisiert. Rohausbeute 0,13 g. Es sintert bei etwa 120° und schmilzt um 150°. Es wurde wiederholt aus Aceton–Petroläther umkrystallisiert und dabei die Drehungsänderung verfolgt.

0,0213, 0,0206, 0,0223, 0,0230, 0,0238, 0,0204 g Subst., in je 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm,

$$\alpha = +\,0{,}09°;\ +\,0{,}05°;\ +\,0{,}09°;\ +\,0{,}11°;\ +\ 0{,}12°;\ +\ 0{,}11°;$$

$$[\alpha]_D^{18°} = +\,8{,}49°;\ +\,4{,}85°;\ +\,8{,}11°;\ +\,9{,}57°;\ +\,10{,}08°;\ +\,10{,}78°.$$

Das Brucinsalz von der optischen Drehung $[\alpha]_D^{18°} = +\,10{,}8°$ wurde mit konz. Ammoniak übergossen und über Nacht stehen gelassen. Dabei schied sich das Brucin ab. Es wurde filtriert und die Mutterlauge mit Salzsäure angesäuert. Der sich dabei ausscheidende weiße Stoff wurde in Äther aufgenommen und nach dem Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung aus hochsiedendem Petroläther umkrystallisiert. Schmelzp. 165,5—170°.

0,0164 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm,

$$\alpha = -\ 0{,}19°;$$

$$[\alpha]_D^{18°} = -\,23{,}17°.$$

Aus den vereinigten Mutterlaugen des Brucinsalzes wurde beim Verdampfen des Lösungsmittels eine zweite Krystallfraktion an Brucinsalz erhalten. Sie wurde aus Aceton-Petroläther umkrystallisiert und die Drehungsänderung verfolgt. Nach 2maligem Umkrystallisieren war die Drehung konstant.

0,0240, 0,0239 g Subst., in je 2 ccm Chloromform gelöst, l = 1 dm,

$$\alpha = +\ 0{,}17°;\ +\ 0{,}16°;$$

$$[\alpha]_D^{17°} = +\,14{,}17°;\ +\,13{,}45°.$$

Die Ausbeute an Brucinsalz war zu gering, um das Drehungsvermögen der durch Spaltung aus ihm erhaltenen Säure bestimmen zu lassen. Schmelzpunkt des Spaltproduktes 165—167°.

Auch die Mutterlaugen der zweiten Brucinsalz-Krystallfraktion wurden vereinigt, das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand nach dem Umkrystallisieren aus Aceton–Petroläther auf sein optisches Drehungsvermögen untersucht.

Digitized by Google

0,0082 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm,

$$\alpha = + 0{,}10^{\circ};$$

$$[\alpha]_D^{17^\circ} = + 24{,}40^{\circ}.$$

Hydrierung von Iso-rotenon.

0,25 g Iso-rotenon werden in der bei der Rotensäure unter a) geschilderten Weise hydriert. Das zurückbleibende helle Harz krystallisiert beim Erkalten.[1]) Aus dem erhaltenen Krystallgemisch läßt sich durch fraktionierte Krystallisation aus Äthanol ein Stoff isolieren, der, aus Aceton–Wasser umkrystallisiert, bei 167° schmilzt. Er krystallisiert in langen, weißen Nadeln. Die Mischschmelzprobe mit Dihydro-desoxy-rotenon ergibt eine starke Depression. Die übrigen Stoffe wurden ihrer schwierigen Reinigung wegen nicht näher untersucht.

Optische Drehung: 0,0108, 0,0108 g Subst., in je 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm,

$$\alpha = - 0{,}13^{\circ};\ - 0{,}12^{\circ};$$

$$[\alpha]_D^{18^\circ} = - 24{,}07^{\circ};\ - 22{,}22^{\circ}.$$

3,194, 2,423 mg Subst.: 8,337, 6,323 mg CO_2, 1,752, 1,376 mg H_2O.

$C_{31}H_{22}O_5$ (?)	Ber.	C 71,19	H 6,22
	Gef.	„ 71,19, 71,17	„ 6,14, 6,32.

Dehydrierung von Iso-rotenon mit Jod.[2])

2,5 g Natriumacetat werden in 50 ccm Alkohol gelöst und 1 g Iso-rotenon wird in dieser Lösung auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Allmählich fügt man 1 g Jod in 30 ccm Alkohol zur Lösung hinzu und erwärmt noch $^1/_2$ Stunde. Beim Erkalten der Reaktionslösung krystallisiert das Iso-dehydro-rotenon in derben, gelben, prismatischen Nadeln. Es wird aus Aceton umkrystallisiert.

---

[1]) Bei einem zweiten Hydrierungsversuch des Iso-rotenons wurde das erhaltene Harz in Äther aufgenommen und durch Ausschütteln mit verdünnter Natronlauge eine geringe Menge saurer Bestandteile gewonnen, die aber nicht weiter untersucht wurden.

[2]) Auch mit K_3FeCy_6 durchführbar. Vgl. Darstellung von Dehydro-rotenon, A. **464**, 270—271 (1928).

Digitized by Google

Schmelzp. 191°. Ausbeute: 0,4 g. Iso-dehydro-rotenon ist optisch inaktiv.

5,048 mg Subst.: 12,955 mg CO_2, 2,22 mg H_2O; 0,010 mg Rest.

$C_{23}H_{20}O_6$	Ber.	C 70,37	H 5,15
	Gef.	„ 70,13	„ 4,93.

Umlagerung von Dehydro-rotenon mit konz. Schwefelsäure.

0,3 g Dehydro-rotenon werden in 5 ccm reiner konz. Schwefelsäure schnell gelöst. Die Lösung wird dann unter Umschütteln in 250 ccm Wasser eingegossen. Es fällt ein gelblicher Niederschlag aus. Er wird abgesaugt und aus Aceton umkrystallisiert. Schmelzp. 191°. Mischschmelzpunkt mit Iso-dehydro-rotenon 190,6°. Der Stoff ist optisch inaktiv.

Oxim. Man fügt zu der alkalischen Lösung von 0,2 g Substanz 0,14 g Hydroxylaminhydrochlorid und versetzt die Lösung mit 10-proc. alkoholischer Kalilauge bis zur deutlich alkalischen Reaktion. Die Reaktionslösung wird 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht, mit Essigsäure angesäuert und bis zur Trübung mit Wasser versetzt. Das Oxim krystallisiert in kleinen, weißen Nadeln. Es wird aus Alkohol—Wasser umkrystallisiert. Schmelzp. 163,5°.

3,258, 5,829 mg Subst.: 0,103, 0,1715 ccm N (21°, 767 mm), (15,4°, 743,5 mm). — 3,311 mg Subst.: 8,200 mg CO_2, 1,62 mg H_2O.

$C_{23}H_{21}O_6N$	Ber.	C 67,81	H 5,20	N 3,44
	Gef.	„ 67,54	„ 5,48	„ 3,70, 3,41.

Hydrierung von Iso-dehydro-rotenon.

0,35 g Iso-dehydro-rotenon werden mit Platinkatalysator in Eisessiglösung in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Während der Wasserstoffaufnahme wird die ursprünglich gelbe Lösung entfärbt. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme wird das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft. Es hinterbleibt ein weißer, krystallisierter Rückstand. Das Produkt stellt ein Krystallgemisch dar von unscharfem Schmelzpunkt. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Methanol, Aceton—Wasser und Äther läßt sich daraus ein Stoff isolieren vom Schmelzp. 160° (*Iso-dihydro-desoxy-rotenon*).

4,220 mg Subst.: 11,205 mg CO_2, 2,62 mg H_2O.

$C_{23}H_{26}O_5$	Ber.	C 72,28	H 6,86
	Gef.	„ 72,42	„ 6,95.

Digitized by Google

Alkalispaltung von Iso-dehydro-rotenon zu Iso-derrissäure.

1 g Iso-dehydro-rotenon wird in 100 ccm 5-proc. äthylalkoholischer Kalilauge gelöst und die Lösung 3 Stunden auf dem Wasserbad unter Durchleiten von Wasserstoff zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit verdünnter Salzsäure angesäuert, mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherauszug wird in saure, phenolische und neutrale Anteile getrennt.

Nach dem Trocknen und Verdampfen der Ätherlösung der sauren Anteile hinterbleibt ein krystallisierter Rückstand. Er wird zunächst wiederholt aus Äthanol–Wasser und dann aus Aceton–Wasser umkrystallisiert. Aus diesem Lösungsmittel krystallisiert die Iso-derrissäure in langen weißen Nadeln. Schmelzp. 149°. Ausbeute etwa 80 Proc. d. Th. Iso-derrissäure ist optisch inaktiv. Sie ist gegen 1 stündige Behandlung mit 10-proc. alkoholischer Kalilauge bei 150° stabil.

5,119 mg Subst.: 12,050 mg CO_2, 2,53 mg H_2O.

$C_{23}H_{24}O_6$	Ber. C 64,45	H 5,65
	Gef. „ 64,20	„ 5,53.

Die bei dem Alkaliabbau des Iso-dehydro-rotenons erhaltenen phenolischen und neutralen Anteile krystallisieren nicht.

Läßt man ätherische Diazomethanlösung unmittelbar auf Iso-derrissäure einwirken, dann entsteht der Methylester der Säure vom Schmelzp. 124°. Wird die Methylierung der Iso-derrissäure in methylalkoholischer Lösung vorgenommen, dann erhält man ein nicht krystallisierendes, vollmethyliertes Produkt, das mit Eisenchloridlösung keine Phenolreaktion mehr gibt.

Umlagerung von Derrissäure mit konz. Schwefelsäure.

0,2 g Derrissäure wird möglichst schnell in 3 ccm reiner konz. Schwefelsäure gelöst. Darauf wird die Lösung in 100 ccm Wasser eingegossen. Es scheidet sich ein weißer Stoff ab, der in Äther aufgenommen wird. Nach dem

Digitized by Google

Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung hinterbleibt ein hellbraunes Harz, das beim Verreiben mit Äthanol krystallisiert. Es liegt ein unscharf schmelzendes Krystallgemisch vor. Durch fraktionierte Krystallisation aus Aceton–Wasser läßt sich ein Stoff isolieren, der bei 147—148° schmilzt. Mischschmelzpunkt mit Iso-derrissäure 149,2°. Mischschmelzpunkt mit Derrissäure: starke Sinterung bei 135°, Schmelze bei 144°.

3,515 mg Subst.: 8,355 mg CO_2, 1,873 mg H_2O.

$C_{23}H_{24}O_8$	Ber.	C 64,45	H 5,65
	Gef.	„ 64,28	„ 5,91.

Oxim. 0,1 g Iso-derrissäure wird in alkoholischer Lösung nach Zugabe von 0,15 g Hydroxylamin-hydrochlorid mit 10-proc. alkoholischer Kalilauge bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt. Darauf wird mit etwas Wasser verdünnt, um ausgeschiedenes Kaliumchlorid zu lösen, und 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Nach dem Erkalten wird mit Essigsäure angesäuert, mit Wasser verdünnt und ausgeäthert. Nach dem Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung auf ein kleines Volumen wird vorsichtig mit niedrig siedendem Petroläther versetzt. Dabei scheidet sich das Oxim krystallisiert ab. Es wird aus Äther–Petroläther umkrystallisiert. Schmelzp. 170°.

3,846 mg Subst.: 0,1049 ccm N (18,8°, 739 mm). — 4,610 mg Subst.: 10,550 mg CO_2, 2,44 mg H_2O.

$C_{23}H_{25}O_8N$	Ber.	C 62,29	H 5,68	N 3,16
	Gef.	„ 62,41	„ 5,92	„ 3,10.

Mono-acetyl-Derivat. 0,1 g Iso-derrissäure wird in 3 ccm Pyridin gelöst, mit 10 ccm Essigsäure-anhydrid versetzt und 2 Tage in der Kälte aufbewahrt. Dann wird die Reaktionslösung in 300 ccm verdünnte Schwefelsäure eingegossen. Dabei scheidet sich das Monoacetylderivat als konsistentes, gelbes Öl ab, das durch Dekantieren von der Schwefelsäurelösung getrennt werden kann. Das Öl wird in Äther aufgenommen. Nach dem Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung hinterbleibt ein braunes Harz, das beim Verreiben mit Äthanol krystallisiert. Das Acetylderivat wird durch Umkrystallisieren aus Essigester–Petroläther, Äthanol–Wasser und Aceton–Petroläther gereinigt. Schmelzp. 136°.

2,579 mg Subst.: 6,000 mg CO_2, 1,33 mg H_2O.

$C_{25}H_{26}O_9$	Ber.	C 63,80	H 5,57
	Gef.	„ 63,45	„ 5,77.

Digitized by Google

Derrissäure.[1])

Optische Drehung: 0,0383 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, l = 1 dm; α = – 1,07°; – 1,10°;

$$[\alpha]_D^{19°} = -56{,}02°;\ -57{,}60°.$$

Dihydro-derrissäure.[2])

0,0519, 0,0311 g Subst., in je 2 ccm Pyridin gelöst, l = 1 dm; α = – 1,86°; – 1,13°; $[\alpha]_D^{18°} = -71{,}81°;\ -72{,}90°$.

Dihydro-derrissäure gibt mit Eisenchloridlösung eine Rotfärbung.[3])

Hydrierung der Derrissäure mit Kalle-Palladium.

0,2 g Derrissäure werden in einer wäßrigen Acetonlösung mit 0,1 g kolloidalem Palladium (Kalle) in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die einem Mol entsprechende Menge Wasserstoff von 10 ccm wird innerhalb 5 Minuten aufgenommen. Nachdem im Verlaufe von etwa $^1/_2$ Stunde ein zweites Mol absorbiert ist, wird die Hydrierung unterbrochen. Die kolloidale Palladiumlösung wird angesäuert und ausgeäthert. Nach dem Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung hinterbleibt ein krystallisierter Rückstand, der aus Aceton–Petroläther in sehr feinen Nadeln krystallisiert. Der Stoff wird durch Umkrystallisieren aus Äthanol–Wasser gereinigt. Schmelzp. 211°. Die Substanz ist optisch inaktiv.

3,398, 3,090 mg Subst.: 8,018, 7,301 mg CO_2, 2,420, 2,135 mg H_2O.

$C_{22}H_{32}O_7$ (?)	Ber.	C 64,66	H 7,90
	Gef.	„ 64,35, 64,44	„ 7,97, 7,73.

Mono-acetylderivat der Derrissäure.

0,1 g Derrissäure wird mit 3 ccm Pyridin und 10 ccm Essigsäureanhydrid versetzt und 2 Tage in der Kälte aufbewahrt. Die Lösung wird dann in 200 ccm verdünnte Schwefelsäure eingegossen. Das Acetylderivat scheidet sich dabei als konsistentes, gelbes Öl ab, das durch Dekantieren von der Schwefelsäurelösung getrennt werden kann. Das Öl wird in Äther aufgenommen. Nach dem Trocknen und Verdampfen des Äthers hinterbleibt ein hellbraunes Harz, das, in Aceton gelöst und vorsichtig mit niedrig siedendem Petroläther ver-

[1]) A. 464, 272 (1928). [2]) A. 464, 273 (1928).
[3]) Berichtigung zu A. 464, 273 (1928).

Digitized by Google

setzt, krystallisiert. Das Acetylderivat wird durch Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther gereinigt. Schmelzp. 136°.

3,062 mg Subst.: 7,150 mg CO_2, 1,65 mg H_2O.

$C_{25}H_{26}O_9$ Ber. C 63,80 H 5,57
Gef. „ 63,68 „ 6,03.

Optisches Drehungsvermögen einiger Glieder der Rotenonreihe.

Dihydro-desoxy-rotenon.

0,0229 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, $l = 1$ dm, $\alpha = -1{,}71°$;
$[\alpha]_D^{18°} = -150°$.

Dehydro-rotenon.

0,0316 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, $l = 1$ dm; $\alpha = -0{,}64°$;
$[\alpha]_D^{18°} = -40{,}50°$.

Derritol.

0,0232 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, $l = 1$ dm; $\alpha = -0{,}90°$;
$[\alpha]_D^{20°} = -78°$.

Anhydro-derritol.

0,0173 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, $l = 1$ dm; $\alpha = -0{,}77°$;
$[\alpha]_D^{19°} = -89°$.

Tubasäure.[1])

0,0266 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, $l = 1$ dm; $\alpha = -0{,}97°$;
$[\alpha]_D^{20°} = -73{,}0°$.

Tubasäuremethylester.

0,0273 g Subst., in 2 ccm Chloroform gelöst, $l = 1$ dm; $\alpha = -0{,}99°$;
$[\alpha]_D^{19°} = -72{,}8°$.

Dihydro-tubasäure.

0,0338, 0,0139 g Subst., in je 2 ccm Chloroform gelöst, $l = 1$ dm;
$\alpha = -1{,}49°$; $-0{,}62°$; $[\alpha]_D^{20°} = -88{,}16°$; $-89{,}21°$.

Kondensationsreaktionen mit Maleinsäureanhydrid.[2])

0,1 g *Dehydro-rotenon* wird mit 0,03 g Maleinsäureanhydrid in wasserfreier Benzollösung 3 Stunden auf dem

[1]) Berichtigung zu A. **464**, 273 (1928).
[2]) Nach O. Diels u. K. Alder, A. **460**, 102 (1928).

Digitized by Google

Wasserbad gekocht. Beim Erkalten scheidet sich ein gelber, krystallisierter Stoff[1]) ab. Er wird aus Äthanol umkrystallisiert und schmilzt unter Zersetzung um 256°.

4,425 mg Subst.: 10,945 mg CO_2, 1,98 mg H_2O.

$C_{29}H_{26}O_9$ (?)[2])	Ber. C 67,15	H 5,06
	Gef. „ 67,46	„ 5,01.

0,1 g *Iso-dehydro-rotenon* liefert bei der gleichen Behandlung ein gleichartiges Reaktionsprodukt, das, aus Äthanol umkrystallisiert, bei 261° unter Zersetzung schmilzt.

5,039 mg Subst.: 12,420 mg CO_2, 2,20 mg H_2O.

$C_{29}H_{26}O_9$ (?)[2])	Ber. C 67,15	H 5,06
	Gef. „ 67,22	„ 4,89.

Analoge Kondensationsversuche, beim Rotenon, Isorotenon und der Derrissäure durchgeführt, ergeben negative Resultate. In allen drei Fällen wird das Ausgangsmaterial zurückerhalten.

Beobachtete Schmelzpunkts-Anomalien.

Rotenon läßt sich durch Reiben im Achatmörser unter deutlichem Knistern im Verlauf von etwa 2 Stunden in ein Rotenon überführen, welches bei 176° schmilzt. Mit frisch umkrystallisiertem Rotenon gelingt es, den höher schmelzenden Stoff in der gleichen Weise schon in 5—10 Minuten zu erhalten. Krystallisiert man das Rotenon vom Schmelzp. 176° um, so wird jedesmal ein Rotenon vom Schmelzp. 163° zurückerhalten, selbst dann, wenn man die Lösung mit Rotenon vom Schmelzp. 176° impft.[3])

Iso-rotenon scheint in zwei Krystallformen vom Schmelzp. 176° und vom Schmelzp. 184° vorzukommen[4]); es ist beobachtet worden, daß der Schmelzpunkt des Iso-rotenons beim Umkrystallisieren von 180° bis 169,4° sinkt. Die Drehung bleibt dabei konstant.

---

[1]) Bei einem einmal durchgeführten Versuch, in alkalischer Lösung ein Oxim des Kondensationsproduktes darzustellen, wurden geringe Mengen eines in Äthanol leicht löslichen Stoffes erhalten, der aber nicht krystallisierte.

[2]) Normale Kondensationsprodukte erfordern die Formel $C_{27}H_{22}O_9$. Die abweichenden Analysenergebnisse sind wohl darauf zurückzuführen, daß beim Umkrystallisieren aus Äthanol, in dem allein die Stoffe hinreichend löslich sind, teilweise Veresterung erfolgt ist.

[3]) Beobachtet von Herrn cd. chem. Edgar Schütt.

[4]) Vgl. wechselnde Schmelzpunktsangaben bei Takei, Wright, La Forge (a. a. O.).

Digitized by Google

Rotensäure vom Schmelzp. 180/181° zeigt bei sehr häufigem Umkrystallisieren aus Ligroin allmähliches Fallen des Schmelzpunktes bis auf 176°.

Wir glauben in diesen Erscheinungen das Vorliegen polymorpher Krystallmodifikationen zu erkennen. Vielleicht findet auch der Schmelzpunktsunterschied am Dihydro-rotenon (216° nach Kariyone und Butenandt, 164° nach La Forge) darin seine Erklärung. Eine erneute Darstellung von reinem neutralen Dihydro-rotenon führte wiederum zu einem in schönen Prismen krystallisierenden Stoff vom Schmelzp. 216°.

Über einige Umsetzungen des Dehydro-ergosterins und des Ergosterins;

von *A. Windaus, E. Auhagen, W. Bergmann* und *H. Butte.*

Mit 3 Figuren im Text.

[Aus dem Allgem. Chem. Universitätslaboratorium Göttingen.]

(Eingelaufen am 10. Dezember 1929.)

Wir haben unsere Bemühungen, auf chemischem Wege Isomere des Ergosterins zu erhalten, fortgesetzt und sind damit beschäftigt, diese Isomeren mit den Produkten der Ultraviolettbestrahlung des Ergosterins zu vergleichen.

I. Über die Hydrierung des Dehydro-ergosterins.

Von den bisher bekannten isomeren Ergosterinen wird nur das Ergosterin selbst (das Ergosterin A), mit Natrium und Äthylalkohol zu einem Dihydro-ergosterin hydriert.[1])

Wir haben nun das Verhalten des Dehydro-ergosterins[2]), eines vierfach ungesättigten Sterins, das wir aus Ergosterin mittels Mercuriacetat dargestellt haben, gegenüber Natrium und Alkohol studiert.

[1]) Windaus u. Brunken, **460**, 232 (1928).
[2]) Windaus u. Linsert, A. **465**, 156 (1928).

Digitized by Google

Das Dehydro-ergosterin nimmt hierbei zunächst 1 Mol Wasserstoff auf und liefert ein *Dihydro-dehydro-ergosterin* $C_{27}H_{42}O$, das noch nicht bekannt ist und als Ergosterin F bezeichnet werden soll.[1]) Das neue Isomere schmilzt bei 151°, es zeigt $[\alpha]_D = -20°$ und in seinem Ultraviolettspektrum zwei Banden bei etwa 252 und 235 mμ. Bei der Titration mit Benzopersäure verbraucht es 3 Atome Sauerstoff, bei der katalytischen Hydrierung mit Platin und Eisessig liefert es ebenso wie Dehydro-ergosterin selbst das *allo-α-Ergostanol.* Mit Digitonin bildet es eine unlösliche Additionsverbindung. Es ist antirachitisch unwirksam und läßt sich durch Bestrahlen nicht aktivieren.

Bei der Behandlung mit Natrium und *Propylalkohol* wird es weiter hydriert und nimmt nochmals 2 Atome Wasserstoff auf und liefert einen doppelt ungesättigten Alkohol, der ein Isomeres des Dihydro-ergosterins darstellt und als *Dihydro-ergosterin II* bezeichnet werden soll. Er schmilzt bei 158—159°, gibt für $[\alpha]_D$ den Wert von $-6{,}6°$ und ein Absorptionsspektrum mit einer Bande bei 240 mμ. Bei der Titration mit Benzopersäure verbraucht er zwei Atome Sauerstoff, bei der katalytischen Hydrierung mit Platin und Eisessig liefert er *allo-α-Ergostanol.* Er ist, ebenso wie das Ergosterin F, durch ein Acetylderivat und ein Phenylurethan charakterisiert worden.

II. Über die Reduktion des Dehydro-ergosterin-peroxyds.

Wie wir kürzlich mitgeteilt haben[2]), läßt sich das Ergosterinperoxyd $C_{27}H_{42}O_3$ mit Zinkstaub und Alkali zu einem Ergostadien-triol $C_{27}H_{44}O_3$ hydrieren. Wird dieses Triol mit Palladium und Wasserstoff behandelt, liefert es ein Ergo-

[1]) Es ist bemerkenswert, daß man zwei verschiedene Ergosterine erhält, je nachdem ob man Ergosterin A zunächst mit Natrium und Alkohol hydriert und dann mit Mercuriacetat dehydriert oder ob man die Operationen in der umgekehrten Reihenfolge vornimmt. Im ersten Fall entsteht Ergosterin D, $[\alpha]_D = +22°$, A. 472, 192 (1929), im anderen Fall Ergosterin F, $[\alpha]_D = -20°$.

[2]) A. 465, 156 (1928); A. 472, 199 (1929).

Digitized by Google

stendiol $C_{27}H_{46}O_2$, das durch ein Monoacetylderivat charakterisiert worden ist. Das Dien-triol und das Endiol werden durch Platin und Wasserstoff in essigsaurer Lösung beide zum gesättigten Alkohol, dem *allo-α-Ergostanol* hydriert. Von Natrium und Äthylalkohol wird das Endiol nicht angegriffen, während das Dientriol ebenso wie das Ergosterinperoxyd zum Dihydro-ergosterin reduziert wird.

Etwas anders wie das Ergosterinperoxyd verhält sich das Dehydro-ergosterin-peroxyd gegenüber Reduktionsmitteln.

Das Dehydro-ergosterin-peroxyd wird durch Zinkstaub und Alkali zu einem Ergosta-triendiol $C_{27}H_{42}O_2$ reduziert; dieses schmilzt bei 220—221°, zeigt für $[\alpha]_D$ den Wert + 48° und gibt bei der Untersuchung des Absorptionsspektrums eine charakteristische Bande bei 240 mμ. Im Vakuum läßt es sich unzersetzt destillieren; bei der Titration mit Benzopersäure verbraucht es drei Atome Sauerstoff; mit Essigsäureanhydrid liefert es nur ein Monoacetyl-derivat vom Schmelzp. 216°, wodurch es wahrscheinlich wird, daß das zweite Hydroxyl zu einer tertiären Alkoholgruppe gehört.

Bei der katalytischen Hydrierung mit Platin und Eisessig entsteht allo-α-Ergostanol; dagegen gibt das Triendiol mit Natrium und Äthylalkohol ein Ergosten-diol $C_{27}H_{46}O_2$, das mit dem über das Ergosterinperoxyd erhaltenen identisch ist. Die Identität wurde durch Vergleich der Alkohole und ihrer Monoacetate sicher bewiesen.

Durch Natrium und Propylalkohol wird das Dehydroergosterinperoxyd zum *Dihydro-ergosterin II* reduziert.

III. Einwirkung von Natriumäthylat auf Ergosterin.

Aus früheren Untersuchungen[1]) ist bekannt, daß Dihydrocholesterin, wenn es mit einer alkoholischen Natriumäthylatlösung auf 150° erhitzt wird, eine kleine Menge ε-Cholestanol bildet, das sich nur durch die sterische Anordnung des Wasserstoffs und der Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 4 vom Dihydrocholesterin unterscheidet und daher auch dasselbe Keton liefert wie dieses. Wir wollen den Alkohol

[1]) Windaus u. Uibrig, B. 47, 2388 (1914).

Digitized by Google

darum *Epi-cholestanol* nennen. Genau so verhält sich auch das Koprosterin[1]), das in guter Ausbeute in das entsprechende Epimere (Pseudo-koprosterin oder Epi-koprosterin) übergeht; natürlich liefern auch Koprosterin und Epi-koprosterin dasselbe Keton. Es ist bemerkenswert, daß die Epiderivate durch Digitonin nicht fällbar sind. Komplizierter verläuft die Einwirkung von Natriumäthylat auf Cholesterin.[2]) Hierbei entstehen nämlich nicht Umlagerungsprodukte des *Cholesterins*, sondern des *Dihydro-cholesterins*; das Natriumäthylat wirkt also nicht nur umlagernd, sondern auch hydrierend.

Wir haben nun auch das Ergosterin mit Natriumäthylat auf 180° erhitzt und dabei das Folgende beobachtet:

Bei dieser Reaktion entstehen zwei isomere Alkohole von der Formel $C_{27}H_{44}O$, die nur noch zwei Doppelbindungen enthalten. Der eine ist dem oben beschriebenen Dihydro-ergosterin II vom Schmelzp. 158° sehr ähnlich und vermutlich mit ihm identisch; er fällt mit Digitonin und gibt bei der katalytischen Hydrierung *allo-α-Ergostanol.* Der andere ist mit Digitonin nicht fällbar, er schmilzt bei 208°; er ist ein Epi-dihydro-ergosterin und gibt bei der katalytischen Perhydrierung das Epi-ergostanol, das bereits von Reindel[3]) beschrieben und als Epiderivat charakterisiert worden ist.

Wir haben auch das Keton des Dihydro-ergosterins mit Natriumäthylat erhitzt, hierbei haben wir das normale Dihydro-ergosterin und in kleiner Menge ebenfalls das Epiderivat aufgefunden.

Bemerkenswert ist es, daß von den drei Doppelbindungen des Ergosterins nur die eine durch Natriumäthylat hydrierbar ist.

Versuche.

Ia. Über die Hydrierung des Dehydro-ergosterins mit Natrium und Äthylalkohol.

Ergosterin F.

1 g Dehydro-ergosterin wurde in absolutem Alkohol gelöst und während 8 Stunden mit 10 g metallischem Natrium

[1]) Dorée u. Gardner, Soc. 93, 1630 (1908); Windaus u. Uibrig, B. 48, 860 (1915). [2]) Windaus, A. 453, 107 (1927).

[3]) Reindel u. Detzel, A. 466, 131 (1928); 475, 78 (1929).

Digitized by Google

hydriert; das in der üblichen Weise isolierte Material schmolz zunächst bei 146° und erreichte nach mehrfachem Umkrystallisieren aus Alkohol den Schmelzp. 150—151°. Das Ergosterin F ist schwer löslich in Äther und Chloroform; es hält sein Krystallösungsmittel sehr fest und gibt daher bei der Analyse etwas zu niedrige Kohlenstoffwerte.

Mit Digitonin liefert es ein schwer lösliches Additionsprodukt. Bei der Titration mit Benzopersäure verbrauchen 34,4 mg Subst. 4,4 mg Sauerstoff, entsprechend 3,07 Doppelbindungen. Absorptionskurve siehe Fig. 1.

Das *Acetylderivat* entsteht beim Erhitzen des Ergosterins F mit der zehnfachen Menge Essigsäureanhydrid. Das sich beim Abkühlen ausscheidende Reaktionsprodukt wurde aus Alkohol oder aus Chloroform-Methylalkohol umkrystallisiert; es bildet glänzende Blättchen vom Schmelzpunkt 152—153° und zeigt für $[\alpha]_D^{15}$ den Wert $-23{,}5°$. In Chloroform und Äther ist es leicht, in Alkohol und Essigsäureanhydrid schwer löslich.

5,356 mg Subst.: 16,07 mg CO_2, 5,14 mg H_2O.

$C_{29}H_{44}O_2$	Ber.	C 82,07	H	10,40
	Gef.	„ 81,83	„	10,74.

Bei der Titration mit Benzopersäure verbrauchten 25 mg Acetylderivat 2,8 mg Sauerstoff, entsprechend 2,96 Doppelbindungen.

Bei der Verseifung liefert es das Ergosterin F mit unveränderten Eigenschaften zurück. Bei der katalytischen Hydrierung mit Platin und Eisessig entsteht das Allo-α-ergostylacetat mit $[\alpha]_D = +6{,}3°$.

Phenylurethan: Eine Lösung von 0,5 g Ergosterin F in 10 ccm Benzol wurde nach Zusatz von 1 g Phenyl-i-cyanat 4 Stunden unter Rückfluß erhitzt; das Benzol und das überschüssige Phenyl-i-cyanat wurden im Vakuum abdestilliert; der Rückstand wurde zunächst mit niedrig siedendem Petroläther gewaschen und dann aus Äther umkrystallisiert; das Urethan wurde so in kleinen Nadeln erhalten, die bei 167° schmolzen und für $[\alpha]_D$ den Wert $-18{,}4°$ gaben, Lösungsmittel Benzol.

4,735 mg Subst.: 14,10 mg CO_2, 4,00 mg H_2O. — 3,499 mg Subst.: 0,091 ccm N_2 (21°, 749 mm).

$C_{34}H_{47}NO_2$	Ber.	C 81,21	H	9,45	N	2,79
	Gef.	„ 81,21	„	9,45	„	2,97.

Bei der Verseifung liefert das Urethan das Ergosterin F zurück.

Das Phenylurethan des Dihydro-ergosterins, das zum Vergleich dargestellt wurde, schmilzt bei 178°, zeigt für $[\alpha]_D$ $-16°$, gibt aber mit dem Phenylurethan des Ergosterins F eine starke Schmelzpunktsdepression.

Digitized by Google

1b. Über die Hydrierung des Dehydro-ergosterins mit Natrium und Propylalkohol.

Dihydro-ergosterin II.

1 g Dehydro-ergosterin wurde in siedendem Propylalkohol gelöst und die Lösung im Verlauf von sieben Stunden mit 15 g Natrium behandelt. Das bei der üblichen Ver-

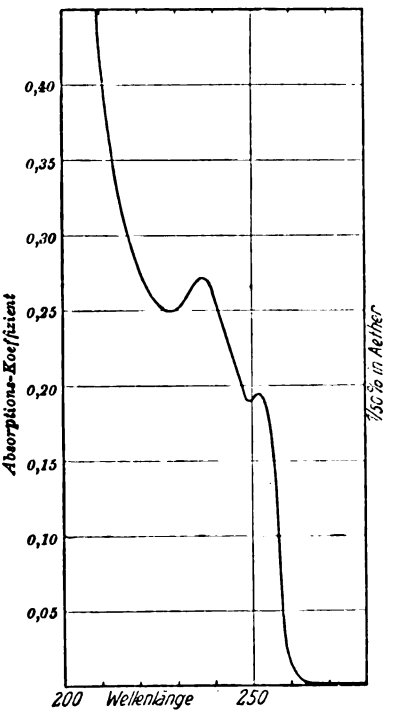


Fig. 1. Ergosterin F.

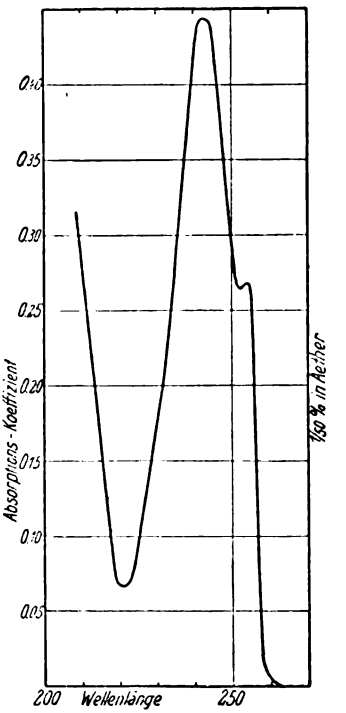


Fig. 2. Dihydro-ergosterin II.

arbeitung erhaltene Reaktionsprodukt (Schmelzp. 154—155°, $[\alpha]_D = -14°$) wurde noch ein zweites Mal in derselben Weise hydriert; hierbei wurde nun ein Stoff erhalten, der aus Alkohol in großen, flachen Nadeln krystallisierte und bei 158—159° schmolz. Für $[\alpha]_D^{18}$ wurde −6,6° gefunden, Lösungsmittel Chloroform. Schmelzpunkt und Drehung änderten sich bei einer dritten Behandlung nicht mehr. Absorptionskurve siehe Fig. 2.

Digitized by Google

Das Dihydro-ergosterin II gibt mit Digitonin eine unlösliche Additionsverbindung, es hält Krystallösungsmittel sehr fest und liefert schlechte Analysenzahlen. Dagegen geben die Ester auf die angenommene Formel passende Werte. Bei der katalytischen Hydrierung des Dihydro-ergosterins II mit Platin und Eisessig entsteht das allo-α-Ergostanol vom Schmelzp. 140—141°, $[\alpha]_D^{18} = +16{,}6°$.

Acetylderivat: Das mittels Essigsäureanhydrid dargestellte Acetylderivat wurde aus Essigester umkrystallisiert; der Schmelzpunkt lag bei 157°, $[\alpha]_D^{18} = -7{,}27°$.

3,728 mg Subst.: 11,170 mg CO_2 3,50 mg H_2O.

$C_{29}H_{46}O_2$	Ber.	C 81,62	H 10,87
	Gef.	„ 81,42	„ 10,56.

Bei der Titration mit Benzopersäure addierten 0,0298 g Acetylderivat nach 18 Stunden 0,00232 g Sauerstoff; diese Menge entspricht 2,07 Atomen und blieb nach 32 Stunden konstant.

Phenylurethan: 0,5 g Dihydro-ergosterin II wurden in 10 ccm Benzol gelöst; die Lösung wurde mit 1 g Phenyl-i-cyanat 4 Stunden unter Rückfluß erwärmt; dann wurde das Benzol und das überschüssige Phenyl-i-cyanat im Vakuum abgedampft und der Rückstand aus Aceton umkrystallisiert. Er bildet Blättchen vom Schmelzp. 177—178°; die Lösung in Benzol oder Chloroform besitzt kein sicher nachweisbares Drehungsvermögen.

5,041 mg Subst.: 15,005 mg CO_2, 4,41 mg H_2O. — 2,837 mg Subst.: 0,068 ccm N_2 (22°, 757 mm).

$C_{34}H_{49}O_2N$	Ber.	C 81,05	H 9,81	N 2,78
	Gef.	„ 81,18	„ 9,83	„ 2,76.

Mit dem Phenylurethan des Ergosterins F gibt dieses Urethan eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Bei der Verseifung mit methylalkoholischer Kalilauge liefert es das Ausgangsmaterial mit unveränderten Eigenschaften zurück.

II. Über die Reduktion des Dehydro-ergosterinperoxyds

4,5 g Dehydro-ergosterinperoxyd wurden in 25 ccm siedendem Äthylalkohol gelöst; zu dieser Lösung wurden 12 g Zinkstaub und 1,5 g in Alkohol gelöstes Kaliumhydroxyd hinzugefügt; die Masse wurde 2 Stunden am Rückflußkühler erhitzt, dann wurde filtriert und der Zinkstaub nochmals mit siedendem Alkohol extrahiert; die Filtrate

Digitized by Google

wurden eingedampft, die abgeschiedenen Krystalle abfiltriert und aus Essigester umkrystallisiert. Man erhält so feine Blättchen vom Schmelzp. 220—221°, die in Chloroform für $[\alpha]_D^{18}$ den Wert +48,19° zeigen. Ausbeute 3,3 g. Das so erhaltene Ergosta-trien-diol destilliert unzersetzt im Hochvakuum; das Destillat gab beim Umkrystallisieren aus Essigester farblose Blätter vom Schmelzp. 220 bis 221° und $[\alpha]_D^{9} = +48{,}3°$. Die Absorptionskurve siehe Fig. 3.

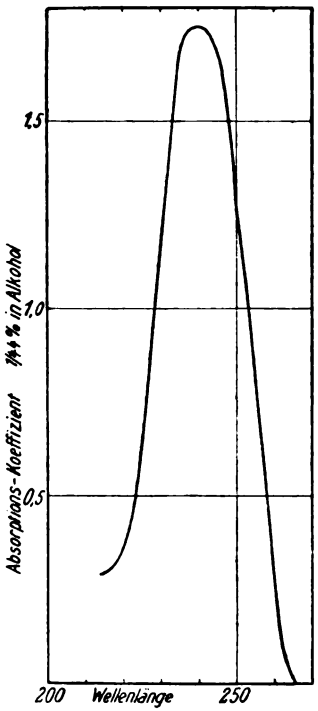


Fig. 3. Ergostatrien-diol.

4,977 mg Subst.: 14,88 mg CO_2, 4,76 mg H_2O.

$C_{27}H_{42}O_2$ Ber. C 81,34 H 10,63
Gef. „ 81,59 „ 10,70.

Bei der Titration mit Benzopersäure verbrauchten 0,050 g des Diols 0,0062 g Sauerstoff, was 3,0 Doppelbindungen entspricht.

Die katalytische Hydrierung mit Platin und Eisessig bei 70° lieferte allo-α-Ergostanol vom Schmelzp. 141° und $[\alpha]_D = +16{,}3°$.

Acetylderivat: Das Mono-acetylderivat des Ergostatrien-diols wurde mit Essigsäureanhydrid in der üblichen Weise erhalten. Es wurde aus Essigester umkrystallisiert und fiel aus diesem Lösungsmittel in Blättchen vom Schmelzp. 216° aus, die für $[\alpha]_D^{20}$ den Wert +48,05 zeigten.

4,941, 4,732 mg Subst.: 14,36 13,755 mg CO_2, 4,5, 4,24 mg H_2O.

$C_{29}H_{44}O_3$ Ber. C 79,02 H 10,07
Gef. „ 79,26, 79,27 „ 10,19, 10,02.

Ergosten-diol.

0,6 g Ergostatrien-diol wurde in 20 ccm absolutem Alkohol gelöst, die Lösung wurde im Laufe von 7 Stunden mit 11 g Natrium behandelt. Die Hydrierung wurde nach Isolierung des Reaktionsprodukts wiederholt und so ein Stoff

Digitized by Google

gewonnen, der aus Alkohol umkrystallisiert, bei 231—232° schmolz und für $[\alpha]_D^{17}$ den Wert + 14,7° zeigte.

Das Acetylderivat, das in der üblichen Weise erhalten wurde, schmolz bei 224—225° und gab für $[\alpha]_D$ den Wert von + 11,5°.

Ein Vergleich mit dem von Windaus, Bergmann und Lüttringhaus beschriebenen Ergosten-diol-monoacetat[1]) ergab die Identität der beiden Stoffe.

III. Einwirkung von Natriumäthylat auf Ergosterin.

A. Dihydro-ergosterin II.

In einem Bombenrohr wurde 0,5 g Natrium in 10 ccm absolutem Alkohol gelöst; nachdem 3 g Ergosterin hinzugefügt waren, wurde das Rohr mit Stickstoff gefüllt, zugeschmolzen und im Paraffinofen 7 Stunden auf 175° erhitzt; nach dem Öffnen des Rohres wurde der Inhalt in Wasser gegossen und ausgeäthert; der Rückstand der ätherischen Lösung wurde in Alkohol gelöst und mit überschüssiger Digitoninlösung versetzt; das ausgeschiedene Digitonid wurde abfiltriert[2]), mit kaltem Äther mehrmals gewaschen und dann 8 Stunden mit siedendem Xylol extrahiert. Dabei ging das Dihydro-ergosterin II in Lösung; das Xylol wurde im Vakuum abdestilliert und der Rückstand aus Äther-Methylalkohol umkrystallisiert. Die erhaltenen Nadeln zeigten den Schmelzp. 157° und $[\alpha]_D = -27°$. Mit Antimonchlorid gab das Material noch eine schwache Färbung, die auf eine Beimengung von Ergosterin hindeutete. Um das Ergosterin zu zerstören, haben wir das Dienol vom Schmelzp. 157° in Methylcyklo-hexan gelöst, die Lösung in ein Uviolglas gefüllt und dann 30 Stunden lang mit einer Quarzquecksilberlampe bestrahlt; nach dieser Zeit wurde die schwach gelb gefärbte Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus Äther-Methylalkohol umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt lag dann bei 157° wie vor der Bestrahlung, die Drehung war aber auf $[\alpha]_D = -18°$ zurückgegangen, die Farbenreaktion mit Antimonchlorid war verschwunden. Wahr-

[1]) A. 472, 200 (1929).

[2]) Über das Filtrat s. unter B.

Digitized by Google

scheinlich waren aber noch immer geringe Reste Ergosterin vorhanden; bis auf die etwas zu hoch gefundene Drehung stimmt der Stoff mit dem oben beschriebenen Dihydro-ergosterin II überein. Die Verbindung ist leicht löslich in Chloroform und Äther, schwerer löslich in Methyl- und Äthylalkohol.

Die Titration mit Benzopersäure ergab, daß 10,02 mg, 12,68 mg Substanz 0,808 mg und 1,040 mg Sauerstoff verbrauchten. Hieraus berechnen sich 1,93 und 1,97 Doppelbindungen pro Mol Dihydroergosterin II.

Das Acetylderivat krystallisierte in schönen Blättchen, die bei 156° schmolzen.

3,390, 3,472 mg Subst.: 10,119, 10,364 mg CO_2, 3,253, 3,502 mg H_2O.

$C_{30}H_{46}O_2$	Ber. C 81,62	H 10,88	
	Gef. „ 81,40, 81,41	„ 10,74, 10,97.	

Katalytische Hydrierung: 0,1 g Dihydro-ergosterin-II-acetat wurden in 100 ccm Eisessig gelöst und 15 Stunden mit Platin und Wasserstoff bei 70° hydriert; dann wurde der Eisessig im Vakuum abgedampft und der Rückstand aus Äther-Methylalkohol umkrystallisiert; er erwies sich in Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Drehung als identisch mit dem *allo-α-Ergostylacetat.*

B. Epi-dihydro-ergosterin.

Das Filtrat des obenerwähnten Digitonids wurde mit Wasser versetzt und mit Petroläther ausgeschüttelt; die Petrolätherauszüge wurden zur Entfernung des Digitonins mit Wasser gewaschen, getrocknet und auf etwa 15 ccm eingedampft; nach einiger Zeit schieden sich etwa 0,3 g unreiner Krystalle ab, die mehrfach aus Ather-Methylalkohol umkrystallisiert wurden. Sie schmolzen dann bei 208° und bildeten ein Filzwerk feiner Nadeln; $[\alpha]_D^{17} = -20{,}4°$, Lösungsmittel Chloroform.

4,760 mg Subst.: 14,725 mg CO_2, 4,96 mg H_2O.

$C_{27}H_{44}O$	Ber. C 84,30	H 11,54	
	Gef. „ 84,37	„ 11,66.	

Das Epi-dihydro-ergosterin ist leicht löslich in Chloroform, schwerer in Äther, Methyl- und Äthylalkohol, sehr

Digitized by Google

schwer löslich in Petroläther; es ist mit Digitonin nicht fällbar.

Das in der üblichen Weise bereitete *Acetylderivat* schmilzt bei 148—149°.

3,418 mg Subst.: 10,259 mg CO_2, 3,424 mg H_2O.

$C_{30}H_{46}O_2$	Ber.	C 81,62	H 10,88
	Gef.	„ 81,86	„ 11,21.

Katalytische Hydrierung: 0,2 g Epi-dihydro-ergosterylacetat wurde in 100 ccm Eisessig gelöst und 10 Stunden mit Platin und Wasserstoff geschüttelt; der Eisessig wurde abgedampft, der Rückstand aus Äther-Methylalkohol umkrystallisiert, bis er den Schmelzp. 144° zeigte; das Acetylprodukt bildet Nadeln, die mit Essigsäureanhydrid und konz. Schwefelsäure keine Farbenreaktion mehr geben, $[\alpha]_D^{12} = +20{,}5°$, Lösungsmittel Chloroform.

Bei der Verseifung des Acetylderivats wurde der freie Alkohol erhalten, der in feinen Nadeln vom Schmelzp. 205° krystallisierte; er ist leicht löslich in Chloroform und Äther, schwer löslich in Alkohol und Petroläther. $[\alpha]_D^{16} = +146°$, Lösungsmittel Chloroform.

Dieser Alkohol ist nach Schmelzpunkt und Drehung identisch mit dem *Epi-ergostanol* von Reindel und Detzel.

Anhangsweise sei mitgeteilt, daß wir auch das Keton des Dihydro-ergosterins, das Ergostadienon, mit Natriumäthylat auf 180° erhitzt haben. Hierbei haben wir nicht das Dihydro-ergosterin II, sondern das gewöhnliche Dihydro-ergosterin I und daneben das oben beschriebene Epi-dihydro-ergosterin erhalten.

Digitized by Google

Calorimetrische Untersuchungen. XVII und XIX. Thermochemische Studien über Cycloparaffine und ihre Derivate;

von *P. E. Verkade*, *J. Coops jr.*, Frau *A. Verkade-Sandbergen* und *Chr. J. Maan*.

[Aus dem chem. Laboratorium der Niederl. Handels-Hochschule in Rotterdam.]

XVII. Experimentelle Daten für fünf- und sechsgliedrige cyclische Diacetate.

(Eingelaufen am 4. November 1929.)

Die im untenstehenden gesammelten experimentellen Daten schließen sich unmittelbar an die unsrer Mitteilung XV[1]) an. Die Besprechung des gesamten Tatsachenmaterials erfolgt in einer späteren Abhandlung.

Darstellung einiger cyclischer 1,2-Diacetate und Bestimmung ihrer Verbrennungswärme.

1. *Cyclopentan-cis-1,2-diol-diacetat.*

Reines Cyclopentan-cis-1,2-diol wird in der 8 fachen Menge frisch destillierten Essigsäureanhydrids gelöst. Nach Zusatz eines Tropfens konz. Schwefelsäure findet sofort unter Wärmeentwicklung Acetylierung statt; die Reaktion wird beendigt, indem während 20 Minuten auf etwa 60° erwärmt wird. Darauf wird die Schwefelsäure entfernt, indem man längere Zeit mit einem Überschuß von sehr fein gepulvertem Calciumcarbonat schüttelt und filtriert. Das Filtrat wird durch gelindes Erwärmen im Vakuum der Wasserstrahlpumpe von der gebildeten Essigsäure und dem Überschuß von Essigsäureanhydrid befreit und der hierbei erhaltene Rückstand an der Ölpumpe rektifiziert. Die Ausbeute an Diacetat war fast quantitativ.

Das Diacetat bildet eine farblose Flüssigkeit, die, auf der Haut ausgerieben, einen typischen an saure Gurken erinnernden Geruch besitzt. Siedep.$_{3,0}$ 80,0—80,5°; Erstarrungsp. — 5,0°.

Für die Verbrennungen 1 und 2 diente ein zweimal sorgfältig fraktioniertes Präparat. Der Rest wurde aufs neue sorgfältig im Vakuum fraktioniert, wonach mit der Mittelfraktion die Verbrennungen 3 und 4

[1]) A. 467, 217 (1928).

Digitized by Google

ausgeführt wurden. Bei dieser flüssigen Substanz wurde, ebenso wie bei einigen folgenden, mit sehr gutem Erfolg wieder von unsrer Methode E[1]) Gebrauch gemacht, welche darin besteht, daß die zu verbrennende Substanz in sehr dünne Glaskügelchen mit kurzem, sehr engem Hals eingeschlossen wird, wonach die Kügelchen mit einer dünnen Schicht Paraffinöl als Initialzünder umhüllt werden.

Q_v = 1113,9 Cal.$_{15°}$ Q_p = 1114,7 Cal.$_{15°}$

2. *Cyclopentan-trans-1,2-diol-diacetat.*

Die Darstellung dieser Substanz erfolgte aus reinem trans-Diol auf die oben beschriebene Weise. Die Ausbeute war wieder fast quantitativ.

Auch dieses Diacetat ist eine farblose Flüssigkeit. Ausgerieben auf der Haut besitzt es einen schwachen Rosenduft. Siedep.$_{3,5}$ 85,5 bis 86,5°[2]); Erstarrungsp. − 3,9°.

Nach den Verbrennungen 5, 6 und 7, welche mit einem zweimal sorgfältig fraktionierten Präparat ausgeführt wurden, wurde der Rest aufs neue fraktioniert; mit der hierdurch erhaltenen Mittelfraktion wurden die Verbrennungen 8 und 9 gemacht.

Q_v = 1113,1 Cal.$_{15°}$ Q_p = 1114,0 Cal.$_{15°}$

3. *Hydrinden-cis-1,2-diol-diacetat.*

Diese Substanz wurde mit fast quantitativer Ausbeute durch Acetylierung von reinem Hydrinden-cis-1,2-diol auf die oben angegebene Weise erhalten. Das nach Abdestillieren der gebildeten Essigsäure und des Überschusses von Essigsäureanhydrid verbleibende rohe Diacetat wurde bald krystallinisch. Dieses Rohprodukt wurde erst aus 96-proc. Äthylalkohol, danach aus Petroläther (Siedep. 40—60°) umkrystallisiert (Verbrennungen 10 und 11). Der Rest wurde aufs neue aus Petroläther umkrystallisiert (12 und 13). Der Schmelzpunkt der kleinen, farblosen Krystallnadeln lag bei (49,8°) 50,8—51,6°.

Q_v = 1514,9 Cal.$_{15°}$ Q_p = 1515,7 Cal.$_{15°}$.

4. *Hydrinden-trans-1,2-diol-diacetat.*

Van Loon[3]) erhielt bei der Einwirkung von Kaliumacetat auf Indendibromid in Eisessiglösung mit verhältnismäßig geringer Ausbeute ein farbloses viskoses Öl (Siedep.$_{13}$ 169—169,5°), welches schwach bläulich fluoreszierte und einen schwachen, säuerlichen Geruch besaß. Wie aus der Analyse hervorging, war dieses Produkt Hydrindendiacetat. Bei Verseifung in stark alkalischer Lösung wurde ausschließ-

[1]) Verkade und Coops, R. 45, 545 (1926).
[2]) Vgl. Meiser, B. 32, 2049 (1899).
[3]) Dissertation Delft, 1919, S. 20—21.

Digitized by Google

lich Hydrinden-*trans*-1,2-diol erhalten, so daß dieses Diacetat höchstwahrscheinlich die trans-Konfiguration besaß (vgl. S. 287).

Bei Acetylierung von reinem trans-Diol auf die oben angegebene Weise erhielten wir mit fast quantitativer Ausbeute das gesuchte Diacetat als eine etwas viskose Flüssigkeit, welche durch Fraktionieren im Vakuum gereinigt wurde. Die reine Substanz war farblos, fluoreszierte nicht und war fast geruchlos; es gelang uns bisher nicht dieselbe zum Krystallisieren zu bringen.

Nach den Verbrennungen 14 und 15, welche mit einem zweimal sorgfältig fraktionierten Präparat (Siedep.$_{10,0}$ 162,2—162,6°) gemacht wurden, wurde der Rest aufs neue fraktioniert; mit der hierbei erhaltenen Mittelfraktion (Siedep.$_{8,0}$ 160,0—160,2°) wurden die Verbrennungen 16, 17 und 18 durchgeführt.

$$Q_v = 1518{,}4 \text{ Cal.}_{15°} \qquad Q_p = 1519{,}8 \text{ Cal.}_{15°}.$$

Die Tatsache, daß die beiden Hydrinden-diacetate in verschiedenem Aggregatszustande verbrannt sind, erschwert selbstverständlich den Vergleich ihrer Energieinhalte. Versuche, auf dieselbe Weise wie dies beim sebacinsauren Dimethylester mit gutem Erfolg geschehen war[1]), das cis-Isomere in unterkühlt-flüssigem Zustande zu verbrennen, hatten hier keinen Erfolg.

Berner[2]) mischte krystallinisches *Diäthyl-antitartrat* (Schmelzpunkt 58,0°) mit einer gleichen Gewichtsmenge flüssigem *Diäthyl-d-tartrat*, für dessen Verbrennungswärme er 4513,7 cal.$_{15°}$ pro g (vak.) gefunden hatte. Die Verbrennungswärme dieses geraume Zeit flüssig bleibenden Gemisches betrug 4515,3 cal.$_{15°}$ pro g (vak.). Aus diesen Daten leitet Berner nun für die Verbrennungswärme des unterkühlt-flüssigen Antitartrats den Wert *4516,9* cal.$_{15°}$ pro g (vak.) ab. Diese Berechnungsweise der Verbrennungswärme macht die Annahme zur Voraussetzung, daß der bei der Mischung der beiden Substanzen auftretende Wärmeeffekt zum Vernachlässigen gering ist. Daß damit durchaus nicht immer zu rechnen ist und deshalb den in dieser Weise ermittelten Verbrennungswärmen nur geringe oder überhaupt keine Bedeutung beizumessen ist, zeigte sich auf überzeugende Weise bei einigen Messungen, welche wir mit flüssigen

[1]) Verkade, Coops u. Hartman, R. 45, 590 (1926).

[2]) Archiv Mathem. Naturvidenskab 39, Nr. 6, S. 116 u. 129 (1926).

Digitized by Google

Gemischen von etwa 32 Proc. trans- und 68 Proc. cis-Hydrindendiacetat ausführten. Die aus den Verbrennungswärmen dieses Gemisches und des flüssigen trans-Diacetats berechnete Verbrennungswärme des unterkühlt-flüssigen cis-Isomeren lag *ganz bedeutend, fast hundert Kalorien, unter* der oben für die krystallinische Substanz angegebenen! Dies kann selbstverständlich in Wirklichkeit nicht der Fall sein. Was bei der Mischung dieser Diacetate vor sich geht, muß hier dahingestellt bleiben.

In Erwartung der experimentellen Bestimmung der Schmelzwärme — und der spezifischen Wärme in flüssigem und festem Zustande — des cis-Diacetats, werden wir bei unseren späteren Berechnungen notgedrungen die Verbrennungswärme der unterkühlt-flüssigen Substanz aus derjenigen der festen Substanz ableiten mit Hilfe der unter Anwendung empirischer Regeln berechneten Schmelzwärme; hiergegen können schwerwiegende Bedenken nicht erhoben werden.

5. *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-diacetat.*

Dieses Diacetat war schon von **Straus und Rohrbacher**[1]) dargestellt worden, jedoch auf höchst umständliche Weise; für den Schmelzpunkt gaben sie 78,6—79,2° an.

Wir erhielten die Substanz durch Acetylieren von reinem 1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol auf die übliche Weise und mit fast quantitativer Ausbeute. Das krystallinische Rohprodukt wurde aus niedrig siedendem Petroläther umkrystallisiert (Verbrennungen 19 und 20). Der Rest wurde aufs neue aus Petroläther umkrystallisiert (21, 22 und 23).

Der Schmelzpunkt der kleinen, farblosen Krystallnadeln lag bei (77,5°) 78,6—79,4°.

Q_v = **1667,9** Cal.$_{15°}$ Q_p = **1669,1** Cal.$_{15°}$.

6. *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-1,2-diol-diacetat.*

Nach den Angaben von **Straus und Rohrbacher**[2]) erhielten wir eine fast quantitative Ausbeute. Das krystallinische Rohprodukt wurde in wenig Benzol gelöst und mit Hilfe von niedrig siedendem Petroläther in zwei Fraktionen gefällt. Jede dieser Fraktionen wurde noch einmal aus einem Gemisch von Benzol und Petroläther umkrystallisiert. Die erste Fraktion diente für die Verbrennungen 24, 25, die zweite für 26, 27.

[1]) B. **54**, 68 (1921). [2]) A. a. O. S. 65, 67.

Digitized by Google

Für den Schmelzpunkt dieses Stoffes fanden wir (83,5°) 84,0 bis 84,5°, Straus und Rohrbacher 84°.

Q_v = **1666,4** Cal.$_{15°}$ Q_p = **1667,5** Cal.$_{15°}$.

7. *Cyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat.*

Dieses wurde auf die übliche Weise ausgehend von reinem cis-Diol, mit fast quantitativer Ausbeute dargestellt.

Das Diacetat bildet eine farblose, etwas viskose Flüssigkeit vom Siedep.$_{13}$ 113,8 bis 114,0°; der Geruch stimmt in auffallender Weise mit dem des entsprechenden Cyclopentan-Derivats überein. Es gelang uns bisher nicht, die Substanz in krystallinischem Zustande zu erhalten.

Infolge zufälliger Umstände wurde hier das für die unten mitgeteilten Bestimmungen der Verbrennungswärme verwendete Präparat durch Rektifizierung eines Rohproduktes im Kathodenvakuum dargestellt. Die Verbrennungen 28 und 29, 30 und 31, 32 und 33 wurden mit Präparaten, die einmal, zweimal und dreimal auf diese Weise fraktioniert waren, ausgeführt.

Q_v = **1260,9** Cal.$_{15°}$ Q_p = **1262,1** Cal.$_{15°}$.

8. *Cyclohexan-trans-1,2-diol-diacetat.*

Brunel[1]) erhielt dieses Diacetat durch Kochen des Diols vom Schmelzp. 104° — dem er jedoch irrtümlicherweise die cis-Konfiguration zusprach — mit Essigsäureanhydrid als eine farblose, schwach riechende Flüssigkeit, welche unter normalem Druck bei 253° siedete.

In üblicher Weise mit fast quantitativer Ausbeute dargestellt, bildete dieses Diacetat eine farblose, etwas viskose Flüssigkeit, welche bisher nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte, und deren Geruch starke Ähnlichkeit mit dem des entsprechenden Cyclopentan-derivats zeigte; bei den Cyclopentan-, sowohl als bei den Cyclohexan-1,2-diacetaten gibt es also einen charakteristischen Unterschied in Geruch zwischen der cis- und der trans-Verbindung. Siedep.$_{11,5}$ 113,0—113,2°.

Nach den Verbrennungen 34 und 35 wurde der Rest des Präparats sorgfältig i. V. rektifiziert und die Mittelfraktion aufs neue verbrannt (36 und 37). Verbrennung 38 wurde durchgeführt nach nochmaligem Fraktionieren des Präparats.

Q_v = **1262,5** Cal.$_{15°}$ Q_p = **1263,7** Cal.$_{15°}$.

9. *1-Phenylcyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat.*

10 g 1-Phenylcyclohexan-cis-1,2-diol wurden auf die übliche Weise mit 100 g Essigsäureanhydrid und einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure acetyliert. Das bei der Aufarbeitung in der üblichen Weise erhaltene Rohprodukt stellte eine mit Öl durchtränkte Krystallmasse dar. Durch Zusatz einer großen Menge niedrig siedenden Petroläthers zur Lösung des Rohproduktes in wenig Benzol, wurde der vorhandene Farbstoff ausgefällt. Nach längerem Reiben der filtrierten Lösung begann eine langsame Krystallisation des gesuchten Diacetats, wovon

[1]) A. ch. (8) **6**, 248 (1905).

Digitized by Google

etwa 7 g gewonnen wurden. Ausbeute etwa 50 Proc. Schmelzp. (135,5°) 136,4—137,8°.

Das so erhaltene Diacetat wurde noch einmal aus einem Gemisch von Benzol und Petroläther umkrystallisiert (39 und 40). Der Rest des Präparats wurde noch einmal auf dieselbe Weise umkrystallisiert (41).

Q_v = 1982,5 Cal.$_{15°}$ Q_p = 1984,3 Cal.$_{15°}$.

Tabellen der Verbrennungswärmen.

Die hier folgenden Tabellen geben die nötigen Einzelheiten zur Beurteilung unsrer Bestimmungen der Verbrennungswärmen; ihre Einrichtung ist die bei unsren Arbeiten immer gebräuchliche. Die großen Buchstaben, die hinter die Namen der Substanzen in Klammern gesetzt sind, bezeichnen die bei den Verbrennungen benutzte Methode.[1]) Die Hilfssubstanz war in allen Fällen Paraffinöl.

Für jedes Resultat ist die größte und die mittlere Abweichung von dem Mittelwert (G. A. M. bzw. M. A. M.) angegeben.

Bei jeder Substanz ist, wie immer bei unsren Arbeiten, die Wärmekapazität ihrer Verbrennungprodukte angeführt. *Infolgedessen gelten die gefundenen Verbrennungswärmen für eine isotherme Reaktion bei der Anfangstemperatur der Messungen; diese letztere betrug immer etwa 19,5°.*

Für einige weiteren Bemerkungen beziehen wir uns auf § 2 von Mitteilung XV[2]).

Cyclopentan-cis-1,2-diol-diacetat [E].

Nr.	Subst. in g (Luft)	Hilfssubst. in g (Luft)	Totale Korrekt. in cal.$_{15°}$	Endtemperatur	Beob. Temp.-Erhöhung	Korrekt. f. Strahlung usw.	Korrig. Temp.-Erhg. × Gradwert	Wärmekapazität in cal.$_{15°}$	Verbrennungsw. pro g (Luft) in cal.$_{15°}$
1	0,72080	0,06290	738,5	21,05°	1,6360°	0,0055°	1,6560°	3052,1	5987,5
2	0,63880	0,08405	978,9	21,0	1,5550	50	1,5740	3052,1	5987,7
3	0,63125	0,08750	1013,7	21,0	1,5505	65	1,5710	3052,1	5989,7
4	0,67015	0,07780	908,6	21,05	1,5925	65	1,6130	3052,1	5990.3
				Mittel:	21,05°				5988,8

G. A. M.: 1,5 cal. = *0,25* ‰ M. A. M.: 0,7 cal. = *0,10* ‰

[1]) Vgl. Verkade, Coops u. Hartman, R. 44, 206 (1925); Verkade und Coops, ibid. 45, 545 (1926). [2]) A. 467, 220 (1928).

Digitized by Google

Cyclopentan-trans-1,2-diol-diacetat [*E*].

5	0,64640	0,08205	954,8	21,0°	1,5615°	0,0050°	1,5805°	3052,1	5985,5
6	0,63055	0,08490	986,5	21,0	1,5405	60	1,5600	3052,1	5986,3
7	0,65605	0,07720	901.4	21,0	1,5620	55	1,5815	3052,1	5983,7
8	0,64560	0,07655	893,4	20,95	1,5385	60	1,5585	3052,1	5984,2
9	0,63295	0,08940	1036,5	21,0	1,5620	45	1,5805	3052,1	5983,4
				Mittel:	21,0°				**5984,6**

G. A. M.: 1,7 cal. = *0,30* ‰ M. A. M.: 0,6 cal. = *0,10* ‰

Hydrinden-cis-1,2-diol-diacetat [*A*].

10	0,75090	—	33,5	20,95°	1,5850°	0,0045°	1,6040°	3051,3	6473,2
11	0,73555	—	34,8	20,95	1,5515	70	1,5725	3051,3	6475,9
12	0,74980	—	29,3	21,0	1,5825	30	1,6000	3051,3	6472,2
13	0,74845	—	32,9	21,0	1,5805	40	1,5990	3051,3	6474,7
				Mittel:	21,0°				**6474,0**

G. A. M.: 1,9 cal. = *0,30* ‰ M. A. M.: 0,8 cal. = *0,10* ‰

Hydrinden-trans-1,2-diol-diacetat [*A*].

14	0,74100	—	35,0	21,05°	1,5665°	0,0070°	1,5875°	3051,3	6488,9
15	0,73970	—	35,2	20,95	1,5640	65	1,5845	3051,3	6488,7
16	0,72980	—	37,3	21,0	1,5440	65	1,5645	3051,3	6490,2
17	0,72805	—	33,7	21,0	1,5395	60	1,5595	3051,3	6489,6
18	0,73750	—	35,2	21,0	1,5605	55	1,5800	3051,3	6489,1
				Mittel:	21,0°				**6489,3**

G. A. M.: 0,9 cal. = *0,15* ‰ M. A. M.: 0,3 cal. = *0,05* ‰

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-diacetat [*D*].

19	0,56490	0,08900	1004,7	20,95°	1,5520°	0,0070°	1,5735°	3051,3	6721,0
20	0,56105	0,08685	980,2	20,95	1,5385	60	1,5585	3050,6	6726,9
21	0,56305	0,08535	969,7	21,0	1,5385	55	1,5580	3053,2	6726,3
22	0,56280	0,08620	974,5	20,95	1,5395	55	1,5590	3053,2	6726,6
23	0,56375	0,08825	996,5	20,9	1,5510	40	1,5685	3053,2	6727,4
				Mittel:	20,95°				**6725,6**

G. A. M.: 4,6 cal. = *0,70* ‰ M. A. M.: 1,2 cal. = *0,20* ‰

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-1,2-diol-diacetat [*D*].

24	0,58740	0,09445	1075,7	21,05°	1,6250°	0,0060°	1,6455°	3051,3	6716,9
25	0,56010	0,08850	1008,6	20,95	1,5440	60	1,5640	3051,3	6719,7
26	0,55845	0,09075	1034,2	21,05	1,5475	65	1,5685	3051,3	6718,3
27	0,56755	0,08510	974,0	21,0	1,5500	55	1,5695	3051,3	6721,9
				Mittel:	21,0°				**6719,2**

G. A. M.: 2,7 cal. = *0,40* ‰ M. A. M.: 1,1 cal. = *0,15* ‰

Digitized by Google

Cyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat [*E*].

28	0,59725	0,09350	1085,2	21,0°	1,5690°	0,0060°	1,5890°	3052,0	6302,9
29	0,59785	0,08635	1001,7	21,0	1,5445	50	1,5635	3052,0	6306,3
30	0,59795	0,09875	1144,3	21,05	1,5885	70	1,6100	3052,0	6304,1
31	0,54015	0,12530	1435,5	21,05	1,5655	65	1,5860	3052,0	6303,7
32	0,60800	0,08760	1018,5	20,95	1,5700	60	1,5900	3052,0	6306,3
33	0,60900	0,08535	991,7	20,95	1,5640	50	1,5830	3052,0	6304,9
				Mittel:	21,0°				**6304,7**

G. A. M.: 1,8 cal. = *0,30* °/₀₀ M. A. M.: 0,6 cal. = *0,10* °/₀₀

Cyclohexan-trans-1,2-diol-diacetat [*E*].

34	0,56700	0,10470	1197,8	20,95°	1,5455°	0,0065°	1,5655°	3052,0	6314,4
35	0,54425	0,11405	1304,1	21,05	1,5325	65	1,5530	3052,0	6312,8
36	0,61185	0,08625	995,8	20,95	1,5725	55	1,5920	3052,0	6313,8
37	0,59445	0,09320	1077,5	21,05	1,5605	75	1,5820	3052,0	6309,7
38	0,61030	0,08930	1033,6	21,0	1,5805	65	1,6010	3052,0	6312,6
				Mittel:	21,0°				**6312,7**

G. A. M.: 3,0 cal. = *0,50* °/₀₀ M. A. M.: 0,8 cal. = *0,15* °/₀₀

1-Phenylcyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat [*D*].

39	0,53465	0,09070	1011,9	21,05°	1,5695°	0,0060°	1,5895°	3052,6	7182,5
40	0,54190	0,08600	960,0	21,0	1,5690	65	1,5895	3052,6	7182,7
41	0,53045	0,09055	1012,5	20,9	1,5600	60	1,5800	3052,6	7183,7
				Mittel:	21,0°				**7183,0**

G. A. M.: 0,7 cal. = *0,10* °/₀₀ M. A. M.: 0,4 cal. = *0,05* °/₀₀

Die Konfiguration der untersuchten Diacetate.

Die Tatsache, daß die Verbrennungswärme der untersuchten Substanzen durch erneute Krystallisation oder Destillation sich nicht veränderte, beweist mit genügender Sicherheit, daß wir es hier mit chemisch reinen Verbindungen zu tun hatten. *Außerdem ergibt sich hier aus den absoluten Werten der für 1 g Substanz gefundenen Verbrennungswärmen in allen Fällen mit vollkommener Gewißheit, daß immer die gewünschten Diacetate* — und nicht durch teilweise Acetylierung entstandene Monoacetate oder durch Wasser- oder Essigsäureabspaltung gebildete Produkte — *vorlagen*; für Berechnungen, welche als Stütze dieser Behauptung dienen können, verweisen wir auf die theoretischen Betrachtungen, die an das in unseren Mitteilungen XV, XVII und XIX niedergelegte Zahlenmaterial angeknüpft werden sollen.

Digitized by Google

Vollständigkeitshalber erwähnen wir inzwischen noch die folgenden, bei der quantitativen Verseifung von einigen dieser Diacetate erzielten Resultate[1]):

Hydrinden-cis-1,2-diol-diacetat:
0,2561 g ⟶ 21,7 ccm 0,1 n-KOH; Ber. 21,89 ccm.

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-diacetat:
0,1773 g ⟶ 14,2 ccm 0,1 n-KOH; Ber. 14,30 ccm.

Cyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat:
0,2526 g ⟶ 24,8 ccm 0,1 n-KOH; Ber. 24,97 ccm.

1-Phenylcyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat:
0,2740 g ⟶ 19,9 ccm 0,1 n-KOH; Ber. 19,88 ccm.

Daß bei der Acetylierung dieser Diole mit Essigsäureanhydrid Diacetate mit derselben stereochemischen Konfiguration entstehen, ist a priori nicht vollkommen sicher. Gerade bei dieser Art des Acetylierens muß die Möglichkeit von Aufspaltung der Kohlenstoff–Sauerstoffbindungen in den Diolen und damit der Veränderung der Konfiguration berücksichtigt werden. Außerdem kann bekanntlich auch Konfigurationsveränderung auftreten, ohne daß nach der Formel an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen etwas geschieht.[2]) Wir haben jetzt für einige unserer Diacetate (*Cyclopentan-trans-1,2-diol-diacetat*, *Hydrinden-cis-1,2-diol-diacetat* und *Cyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat*) nachgewiesen, daß bei alkalischer Verseifung das ursprüngliche Diol mit fast quantitativer Ausbeute zurückerhalten wird; dasselbe war schon von Straus und Rohrbacher[3]) bei der Verseifung von *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-1,2-diol-diacetat* mit methylalkoholischem Kali konstatiert worden. Hieraus geht hervor, daß beide Prozesse, die Acetylierung und die Verseifung, entweder mit oder ohne Konfigurationsveränderung verlaufen sind. Letzteres ist jetzt zweifelsohne weitaus am wahrscheinlichsten.[4])

---

[1]) Analysen von Dr. J. van der Lee.
[2]) Vgl. z. B. Phillips, Soc. **123**, 44 (1923).
[3]) B. **54**, 66 (1921).
[4]) Vgl. van Loon, Dissert. Delft, 1919, S. 10, 21, 62 (Fußnote), 65.

Digitized by Google

Die Verseifung dieser Diacetate wurde immer auf dieselbe Weise ausgeführt. Wir geben hier nur ein einziges Beispiel ausführlich wieder:

a) 20 g *Cyclopentan-trans-1,2-diol-diacetat* wurden in 100 ccm 96-proc. Alkohol gelöst und eine warme Lösung von 50 g Bariumhydroxyd 8 aq in 350 ccm Wasser zugesetzt. Nach $2^1/_2$ stündigem Kochen am Rückflußkühler wurde der Alkohol an einem Vigreuxaufsatz größtenteils abdestilliert, wonach die zurückbleibende Flüssigkeit während einiger Tage kontinuierlich mit Chloroform extrahiert wurde. Das hierbei erhaltene Diol wurde getrocknet, indem es während einiger Zeit in Gegenwart von Phosphorpentoxyd im Vakuum gelinde erwärmt wurde. Dieses mit fast theoretischer Ausbeute gebildete Rohprodukt erstarrte schon über 50°. Das früher für unsere Verbrennungswärme-Bestimmungen verwendete sehr reine Präparat hatte einen Erstarrungspunkt von 53,7° [1]; in Anbetracht der großen molekularen Gefrierpunktsdepression von Cyclopentan-trans-1,2-diol war dieses Rohprodukt also schon fast rein. Unter 19,5 mm Druck ging fast alles bei 136° über; für den Siedepunkt des trans-Diols fand van Loon [2] 136° bei 21,5 mm, während der des cis-Isomeren beträchtlich niedriger ist (123,5° bei 29 mm). Als Erstarrungspunkt des destillierten Produkts fanden wir 52,5°.

b) Als Verseifungsprodukt von *Hydrinden-cis-1,2-diol-diacetat* erhielten wir die schon in Mitteilung XV [3] besprochene labile Form von Hydrinden-cis-1,2-diol, welche in rohem Zustand bei (100,0°) 100,5 bis 101,5° schmilzt.[4] Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Toluol war dieser Schmelzpunkt vollkommen unverändert. Ein Gemisch dieses Rohproduktes mit der stabilen Form des Diols schmolz, ebenso wie dieses letztere, bei 107—108°.

c) Das bei Verseifung von *Cyclohexan-cis-1,2-diol-diacetat* mit theoretischer Ausbeute erhaltene rohe Diol schmolz bei 98—99°. Der Mischschmelzpunkt mit reinem cis-Diol war unverändert, während nach Mischung mit dem trans-Diol eine beträchtliche Schmelzpunktsdepression auftrat.

---

[1]) A. 467, 222 (1928). [2]) A. a. O., S. 39.
[3]) A. a. O., S. 226.
[4]) Vgl. van Loon, a. a. O., S. 25, 27 (Schmelzp. 100,5—101,5°).

Digitized by Google

XIX. Experimentelle Daten für fünf- und sechsgliedrige cyclische Dibenzoate.

[Eingelaufen am 21. November 1929.]

Darstellung einiger cyclischer 1,2-Dibenzoate und Bestimmung ihrer Verbrennungswärme.

1. *Cyclopentan-cis-1,2-diol-dibenzoat.*

9 g reines Cyclopentan-cis-1,2-diol wurden benzoyliert durch halbstündiges Kochen am Rückflußkühler mit 36 g frisch destilliertem Pyridin und 27 g (berechnet 24,8 g) Benzoylchlorid. Die rotbraun gefärbte Reaktionsmasse wurde nach Abkühlung in einen kleinen Überschuß eiskalter, verdünnter Salzsäure gegossen und hiermit kräftig geschüttelt. Das von Pyridin befreite Rohprodukt wurde in Chloroform aufgenommen. Die chloroformische Lösung wurde erst mit stark verdünnter Kalilauge und darauf mit Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und mit Tierkohle soviel wie möglich entfärbt. Nach Entfernung des Chloroforms, erst auf dem Wasserbade, schließlich im Vakuum bei Zimmertemperatur, verblieb das Dibenzoat als eine ziemlich viskose, dunkelbraune Flüssigkeit.

Bisweilen kostete es große Mühe, die Dibenzoate zum erstenmal zur Krystallisation zu bringen. Bis auf zwei Fälle (*1-Methylcyclopentan-* und *1-Methylcyclohexan-cis-1,2-diol-dibenzoat)* ist uns das bisher immer gelungen durch lange währendes Reiben mit einem Glasstabe, unter Umständen in Gegenwart von etwas Alkohol oder Petroläther.

Im obenerwähnten Fall wurde eine mit einer ölartigen Verunreinigung durchtränkte Krystallmasse erhalten. Durch Krystallisation aus 80-proc. Äthylalkohol ließen sich hieraus 14 g in farblosen Nädelchen anschießendes Dibenzoat isolieren; Ausbeute 50 Proc. der Theorie. Schmelzp. (45.8°) 46,5 — 47,5°.

Dieses Produkt wurde noch einmal aus 80-proc. Alkohol umkrystallisiert und diente danach für die Verbrennungen 1, 2, 3 und 4. 5, bzw. 6, 7 und 8 wurden ausgeführt, nachdem der Stoff noch einmal, bzw. zweimal in gleicher Weise umkrystallisiert war.

$$Q_v = 2240{,}9 \text{ Cal.}_{15^\circ} \qquad Q_p = 2242{,}3 \text{ Cal.}_{15^\circ}.$$

2. *Cyclopentan-trans-1,2-diol-dibenzoat.*

Diese Substanz wurde auf ganz analoge Weise aus reinem trans-Diol dargestellt. Während es van Loon[1]), der in genau derselben Weise arbeitete, nicht gelungen ist, dieses Dibenzoat zur Krystallisation

[1]) Dissertation Delft, 1919. S. 43.

Digitized by Google

zu bringen, wurde unser Rohprodukt spontan fest. Schmelzp. (61,4°) 62,2 — 63,2°.

Nach zweimaliger Krystallisation aus 96-proc. Äthylalkohol wurden die Verbrennungen 9 und 10 durchgeführt. Für 11 und 12 wurde der Rest noch einmal in gleicher Weise umkrystallisiert.

Q_v = 2239,0 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2240,5 Cal.$_{15°}$.

3. *1-Methylcyclopentan-trans-1,2-diol-dibenzoat*[1]).

Die Darstellung dieser Substanz erfolgte wieder auf ganz analoge Weise. Die Ausbeute an einmal aus 80-proc. Äthylalkohol umkristallisiertem Dibenzoat war etwa 85 Proc. Schmelzp. (59,2°) 59,5 — 60,4°.

Dieses Produkt wurde erst noch einmal aus 80-proc., danach aus 96-proc. Alkohol umkrystallisiert, bildete dann vollkommen farblose Krystallnadeln und diente zu den Verbrennungen 13 und 14. Der Rest des Präparats wurde wieder aus 80-proc. Alkohol umkrystallisiert, schmolz dann bei (59,4°) 60,2—61,2° (15, 16 und 17). Nach abermaligem Krystallisieren aus 96-proc. Alkohol wurden noch die Verbrennungen 18, 19 und 20 durchgeführt.

Wie aus den Tabellen auf Seite 294 zu entnehmen ist, wurde ein Teil der Verbrennungen nach Methode A[2]), d. h. als Pastille ohne Beifügung von irgendwelcher Hilfssubstanz ausgeführt; bei den übrigen wandten wir Methode D[2]) (die sogenannte „Paraffinölmethode") an, wobei die nicht zu stark gepreßte Pastille mit Paraffinöl von bekannter Verbrennungswärme durchtränkt und umhüllt wurde. Die mittelst dieser beiden Methoden erzielten Resultate stimmen vortrefflich überein; auch in diesem Falle zeigt sich also wieder, daß bei Anwendung unserer Methode D weder Benetzungswärme noch Lösungswärme in solchem Maße auftreten, daß sie die Resultate merklich beeinflussen.

Q_v = 2394,5 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2396,2 Cal.$_{15°}$.

4. *Hydrinden-cis-1,2-diol-dibenzoat.*

Dieses wurde mit etwa 80 Proc. Ausbeute auf ganz analoge Weise erhalten. Aus 96-proc. Äthylalkohol, in dem es — im Gegensatz zu den soeben besprochenen Dibenzoaten — in der Kälte nur wenig löslich ist, umkrystallisiert, bildete es glänzende, leicht verfilzende Nädelchen.

Für den Schmelzpunkt eines auf dieselbe Weise dargestellten Produkts fand van Loon[3]) (107,5°) 109,5—110,5°, bzw. (108°) 110,5 bis 112°; wir fanden (108°) 109,5—110,5°.

Von dieser Substanz wurden drei ganz unabhängige Präparate verbrannt. Verbrennungen 21 und 22 wurden mit einem dreimal aus 96-proc. Alkohol krystallisierten Produkt ausgeführt; der Rest diente

[1]) Es gelang uns bisher nicht, das entsprechende *cis*-Derivat in krystallinischem Zustande zu erhalten.

[2]) Verkade, Coops und Hartman, R. 44, 206 (1925).

[3]) A. a. O. S. 25 und 31.

Digitized by Google

nach erneuter Krystallisation aus Alkohol für die Verbrennungen 23 und 24. Das für die Verbrennungen 25 und 26 dienende Präparat war erst aus Alkohol, dann aus einem Gemisch von Äther und Petroläther, schließlich wieder aus Alkohol umkrystallisiert. Das Präparat von Verbrennung 27 war durch zweimalige Krystallisation aus Alkohol gereinigt.

Q_v = 2643,8 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2645,3 Cal.$_{15°}$.

5. *Hydrinden-trans-1,2-diol-dibenzoat.*

Dieses auf analoge Weise erhaltene Dibenzoat schmolz bei (77,0°) 77,5—78,5°; van Loon[1]) gibt für den Schmelzp. (76°) 76,5—77,5° an.

Die Substanz wurde erst aus niedrigsiedendem Petroläther, danach zweimal aus 96-proc. Äthylalkohol umkrystallisiert und diente dann für die Verbrennungen 28 und 29. Für die Verbrennungen 30, bzw. 31 und 32 wurde die Substanz noch einmal, bzw. zweimal aus Alkohol umkrystallisiert.

Q_v = 2645,8 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2647,3 Cal.$_{15°}$.

6. *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-dibenzoat*

wurde mit etwa 80 Proc. Ausbeute erhalten durch zweistündiges Kochen am Rückflußkühler von 5 g reinem Diol mit 40 g Pyridin und 12,5 g (berechnet 8,6 g) Benzoylchlorid und Aufarbeiten der Reaktionsmasse auf übliche Weise. Nach Umkrystallisation aus 96-proc. Äthylalkohol, in dem der Stoff in der Kälte nur wenig löslich ist, erhielten wir feine Krystallnadeln vom Schmelzp. (122,5°) 123,0—124,0°.

Für die Verbrennungen 33 und 34 diente ein dreimal aus 96-proc. Alkohol umkrystallisiertes Produkt; der Rest diente nach nochmaliger Umkrystallisation für die Verbrennungen 35 und 36. Für die Verbrennungen 37 und 38, bzw. 39 diente ein neues, bzw. viermal und fünfmal aus 96-proc. Alkohol krystallisiertes Präparat.

Q_v = 2797,7 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2799,4 Cal.$_{15°}$.

7. *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-1,2-diol-dibenzoat.*

Dieses Dibenzoat wurde auf genau dieselbe Weise wie das entsprechende cis-Isomere erhalten. Schmelzp. (135,5°) 137,2—137,8°.

Die Verbrennungen 40, 41 und 42 wurden mit einem zweimal aus 96-proc. Äthylalkohol krystallisierten Präparat durchgeführt; nach nochmaliger Krystallisation aus Alkohol diente der Rest für die Verbrennungen 43, 44 und 45.

Q_v = 2796,2 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2797,9 Cal.$_{15°}$.

8. *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-2,3-diol-dibenzoat.*

Leroux[2]) erhielt dieses Dibenzoat, dem er — zufolge irrtümlicher Anschauung betreffs der Konfiguration des entsprechenden Diols

[1]) A. a. O. S. 31.

[2]) A. ch. (8) 21, 515 (1910); vgl. C. r. 148, 931 (1909) (Schmelzp. 127°).

Digitized by Google

(Schmelzp. 124—125°) — die trans-Konfiguration zusprach, durch Benzoylieren des Diols mit Benzoylchlorid und Pyridin in Gegenwart einer großen Menge Benzin. Für den Schmelzpunkt gibt er 126° an.

Wir erhielten diese Substanz auf genau dieselbe Weise wie das soeben beschriebene 1,2-Isomere. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus 96-proc. Äthylalkohol betrug die Ausbeute etwa 85 Proc. Die feinen Krystallnadeln schmolzen bei (127,6°) 128,8—129,8°.

Für die Verbrennungen 46, 47 und 48 diente ein zweimal aus Alkohol krystallisiertes Produkt; nach erneuter Krystallisation aus Alkohol diente der Rest für die Verbrennungen 49 und 50.

Q_v = 2796,1 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2797,8 Cal.$_{15°}$.

9. *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-2,3-diol-dibenzoat.*

Bamberger und Lodter[1]) erhielten diesen Stoff durch mehrstündiges Erhitzen des entsprechenden Diols (Schmelzp. 135—136°) mit Benzoesäureanhydrid auf 150°. Für den Schmelzpunkt geben sie 89 bis 90° an.[2])

Leroux[3]) benzoylierte auch dieses Diol auf die oben angegebene Weise; dem erhaltenen Dibenzoat spricht er mit Unrecht die cis-Konfiguration zu. Für den Schmelzpunkt wird hier 91° angegeben.

Das von uns in üblicher Weise dargestellte Dibenzoat schmolz bei (90,5°) 91,6—92,0°. Nach zweimaliger Krystallisation aus 96-proc. Alkohol diente es für die Verbrennungen 51 und 52. Der Rest wurde aufs neue aus Alkohol krystallisiert und wieder verbrannt (53, 54).

Q_v = 2798,3 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2800,1 Cal.$_{15°}$.

10. *Cyclohexan-cis-1,2-diol-dibenzoat.*

Brunel[4]) benzoylierte das entsprechende Diol (Schmelzp. 98—99°) mit Benzoylchlorid und Pyridin; dem entstandenen Produkt spricht er irrtümlicherweise die trans-Struktur zu. Als Schmelzpunkt wird hier 71,5° angegeben, während mitgeteilt wird, daß der in der vorläufigen Publikation[5]) angegebene Schmelzpunkt (*63°*) auf einem Irrtum beruhe.

Wir erhielten dieses Dibenzoat mit gut 80 Proc. Ausbeute durch Benzoylieren auf die übliche Weise. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus 96-proc. Äthylalkohol lag der Schmelzpunkt der schönen, farblosen Krystallnädelchen bei (*62,2°*) *62,6—63,6°*, d. h. bei der in Brunels vorläufiger Mitteilung angegebenen Temperatur! Die Möglichkeit, daß wir es hier mit einem Fall von Dimorphie zu tun haben, kann

[1]) A. 288, 98 (1895); vgl. Dissertation Reimann, München 1892, S. 35.

[2]) B. 26, 1834 (1893).

[3]) A. a. O. S. 512.

[4]) A. ch. (8) 6, 283 (1905).

[5]) C. r. 136, 385 (1903).

Digitized by Google

nicht ausgeschlossen werden; bei dem von Brunel dargestellten Dibenzoat wäre dann die niedrigschmelzende Form spontan in die stabile, hochschmelzende Form übergegangen. Unser Präparat besaß mehr als vier Jahre nach der Darstellung noch den erwähnten niedrigen Schmelzpunkt. Das in den Schmelzpunktskapillaren erstarrte Produkt wies bei zahlreichen Versuchen immer wieder denselben Schmelzpunkt auf; nie haben wir beobachtet, daß die geschmolzene Substanz bei langsamer weiterer Erwärmung wieder fest wurde, um dann bei 71,5° abermals zu schmelzen. Am allerwahrscheinlichsten kommt es uns vor, daß gerade Brunels letzte Schmelzpunktsangabe (71,5°) auf einem Irrtum beruht.

Nach den Verbrennungen 55 und 56 wurde die Substanz abermals aus 96-proc. Alkohol umkrystallisiert, wonach die Verbrennungen 57 und 58 ausgeführt wurden.

$$Q_v = 2390{,}7 \text{ Cal.}_{15°} \qquad Q_p = 2392{,}5 \text{ Cal.}_{15°}.$$

11. *Cyclohexan-trans-1,2-diol-dibenzoat.*

Brunel[1]) erhielt dieses Dibenzoat, dem er die cis-Konfiguration zusprach, durch Erhitzen des entsprechenden Diols (Schmelzp. 103—104°) mit Benzoylchlorid; für den Schmelzpunkt wird 93,5° angegeben.

Bedos[2]) erhielt dieselbe Substanz (Schmelzp. 92—93°) u. a. durch lange währendes Erhitzen auf 150° von Cyclohexenoxyd mit Benzoesäureanhydrid.

Wir gewannen die Verbindung mit etwa 80 Proc. Ausbeute auf die übliche Weise. Schmelzp. (92,0°) 93,0—93,5°. Die Beobachtung von Brunel, daß das trans-Dibenzoat weniger als das cis-Isomere in kaltem Alkohol löslich ist, konnten wir bestätigen.

Für die Verbrennungen 59 und 60 diente ein zweimal aus 96-proc. Äthylalkohol krystallisiertes Präparat; der Rest desselben diente nach abermaliger Krystallisation aus Alkohol für die Verbrennungen 61 und 62.

$$Q_v = 2386{,}9 \text{ Cal.}_{15°} \qquad Q_p = 2388{,}7 \text{ Cal.}_{15°}.$$

12. *1-Methylcyclohexan-trans-1,2-diol-dibenzoat*[3])

wurde mit etwa 75 Proc. Ausbeute erhalten durch zweistündiges Kochen am Rückflußkühler von 10 g Diol mit 50 g Pyridin und 25 g (berechnet 21,4 g) Benzoylchlorid, wonach auf die übliche Weise aufgearbeitet wurde. Schmelzp. (101,2°) 101,8—102,6°.

---

[1]) C. r. **136**, 384 (1903); A. ch. (8) **6**, 249 (1905).

[2]) C. r. **183**, 750 (1926).

[3]) Das entsprechende *cis*-Dibenzoat konnten wir bisher nicht in krystallinischem Zustande erhalten.

Digitized by Google

Für die Verbrennungen 63, 64 und 65 diente ein zweimal aus 96-proc. Äthylalkohol umkrystallisiertes Präparat; für 66, 67 und 68 wurde der Rest abermals aus Alkohol umkrystallisiert.

Q_v = 2543,2 Cal.$_{15°}$ Q_p = 2545,2 Cal.$_{15°}$.

Verbrennungswärme-Tabellen.

Cyclopentan-cis-1,2-diol-dibenzoat [*D*].

Nr.	Subst. in g (Luft)	Hilfssubst. in g (Luft)	Totale Korrekt. in cal.$_{15°}$	Endtemperatur	Beob. Temp.-Erhöhung	Korrekt. f. Strahlung usw.	Korrig. Temp.-Erhg. × Gradwert	Wärmekapazität in cal.$_{15°}$	Verbrennungsw. pro g (Luft) in cal.$_{15°}$.
1	0,54170	0,08645	973,8	20,95°	1,5820°	0,0055°	1,6020°	3051,3	7226,2
2	0,54220	0,08830	995,9	20,95	1,5910	60	1,6115	3051,3	7232,4
3	0,53950	0,08195	922,8	21,0	1,5615	55	1,5810	3051,3	7231,7
4	0,52690	0,08800	991,1	20,95	1,5520	60	1,5725	3051,3	7225,5
5	0,53310	0,08840	995,0	20,95	1 5695	60	1,5895	3051,3	7231,7
6	0,52495	0,08885	1003,1	20,9	1,5525	45	1,5710	3053,1	7226,1
7	0,55145	0,07990	901,9	21,0	1,5800	70	1,6010	3053,1	7228,7
8	0,54455	0,08495	958,2	20,95	1,5825	60	1,6030	3053,1	7227,8
				Mittel: 20,95°					7228,8

G. A. M.: 3,6 cal. = *0,50‰* M. A. M.: 1,0 cal. = *0,15‰*

Cyclopentan-trans-1,2-diol-dibenzoat [*D*].

9	0,54780	0,08665	976,2	20,95°	1,5965°	0,0060°	1,6165°	3051,3	7221,7
10	0,53000	0,08635	970,2	20,9	1,5540	50	1,5780	3051,3	7225,3
11	0,53420	0,08790	990,7	21,0	1,5680	70	1,5890	3051,3	7221,6
12	0,53670	0,08605	967,9	21,0	1,5670	65	1,5875	3051,3	7222,2
				Mittel: 21,0°					7222,7

G. A. M.: 2,6 cal. = *0,35‰* M. A. M.: 0,9 cal. = *0,10‰*

1-Methylcyclopentan-trans-1,2-diol-dibenzoat [bei 15, 17, 20 *D*, sonst *A*].

13	0,66220	—	17,6	21,0°	1,5870°	0,0070°	1,6080°	3053,1	7387,4
14	0,64125	—	20,1	20,95	1,5400	50	1,5590	3053,1	7391,5
15	0,52795	0,09065	1017,9	21,05	1,5915	55	1,6115	3053,1	7391,3
16	0,65900	—	14,1	21,0	1,5810	50	1,6005	3053,1	7393,4
17	0,52385	0,09265	1041,1	21,05	1,5900	55	1,6095	3053,1	7393,1
18	0,65185	—	5,0	20,95	1,5600	60	1,5795	3052,5	7388,9
19	0,65035	—	4,7	20,9	1,5545	70	1,5755	3052,5	7387,8
20	0,52055	0,08940	996,1	20,95	1,5665	60	1,5865	3052,5	7389,6
				Mittel: 21,0°					7390,4

G. A. M.: 3,0 cal. = *0,40‰* M. A. M.: 0,9 cal. = *0,10‰*

Digitized by Google

Hydrinden-cis-1,2-diol-dibenzoat [bei 26,27 *D*, sonst *A*].

21	0,59275	—	35,6	21,0°	1,5560°	0,0050°	1,5755°	2801,1	7384,9
22	0,58790	—	35,2	21,1	1,5440	45	1,5625	2801,1	7385,1
23	0,59460	—	34,4	20,95	1,5585	70	1,5795	2801,1	7383,1
24	0,58720	—	31,5	21,15	1,5410	50	1,5600	2801,1	7387,8
25	0,58945	—	21,3	20,9	1,5425	55	1,5620	2801,1	7386,7
26	0,47220	0,08965	1025,2	21,2	1,5910	55	1,6110	2801,1	7385,0
27	0,49680	0,09080	1039,0	21,1	1,5230	60	1,5425	3051,3	7382,2
				Mittel: 21,05°					7385,0

G. A. M.: 2,8 cal. = *0,40*‰ M. A. M.: 0,7 cal. = *0,10*‰

Hydrinden-trans-1,2-diol-dibenzoat [bei 32 *D*, sonst *A*].

28	0,58865	—	31,8	21,05°	1,5465°	0,0040°	1,5645°	2801,1	7390,7
29	0,58955	—	34,8	21,0	1,5485	50	1,5675	2801,1	7388,4
30	0,58835	—	34,3	21,0	1,5450	55	1,5645	2801,1	7390,5
31	0,59155	—	27,2	21,05	1,5480	85	1,5705	2801,1	7390,6
32	0,46065	0,08990	1023,2	21,0	1,5610	60	1,5810	2801,1	7392,2
				Mittel: 21,0°					7390,5

G. A. M.: 2,1 cal. = *0,30*‰ M. A. M.: 0,6 cal. = *0,10*‰

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-dibenzoat [*D*].

33	0,49850	0,08900	1020.0	21,1°	1,5425°	0,0065°	1,5630°	3051,3	7520,8
34	0,47790	0,09975	1139,1	21,15	1,5320	55	1,5510	3051,3	7519,8
35	0,49560	0,09205	1055,2	21,15	1,5495	35	1,5670	3051,3	7518,6
36	0,48510	0,09225	1057,3	21,15	1,5230	45	1,5415	3051,3	7516,7
37	0,50495	0,08480	954,9	20,95	1,5395	50	1,5580	3051,3	7523,4
38	0,50085	0,08460	952,8	21,0	1,5270	65	1,5470	3051,3	7522,6
39	0,50335	0,08630	976,6	20,9	1,5405	65	1,5610	3051,3	7522,8
				Mittel: 21,05°					7520,6

G. A. M.: 3,9 cal. = *0,50*‰ M. A. M.: 0,9 cal. = *0,10*‰

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-1,2-diol-dibenzoat [*D*].

40	0,51420	0,09360	1064,9	21,0°	1,5965°	0,0050°	1,6160°	3051,3	7518,8
41	0,50730	0,09525	1083,9	21,1	1,5825	85	1,6050	3051,3	7516,9
42	0,49960	0,09170	1047,5	20,95	1,5550	50	1,5740	3051,3	7516,7
43	0,49715	0,09220	1051,7	21,0	1,5490	65	1,5695	3051,2	7517,1
44	0,48610	0,09905	1126,6	21,05	1,5460	65	1,5660	3051,2	7512,4
45	0,50485	0,08685	998,6	21,05	1,5490	65	1,5695	3051,2	7517,5
				Mittel: 21,05°					7516,6

G. A. M.: 4,2 cal. = *0,55*‰ M. A. M.: 0,9 cal. = *0,10*‰

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-2,3-diol-dibenzoat [*D*].

46	0,49515	0,09140	1044,0	20,95°	1,5420°	0,0055°	1,5615°	3051,2	7514,3
47	0,50240	0,08800	1008,3	21,0	1,5475	70	1,5685	3051,2	7519,2
48	0,49505	0,09040	1031,4	20,95	1,5375	65	1,5580	3051,2	7519,1
49	0,49805	0,09390	1071,5	21,05	1,5575	65	1,5780	3051,2	7515,5
50	0,49245	0,09065	1038,5	20,95	1,5335	55	1,5530	3051,2	7513,6
				Mittel: 21,0°					7516,3

G. A. M.: 2,9 cal. = *0,40*‰ M. A. M.: 1,2 cal. = *0,15*‰

Digitized by Google

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-2,3-diol-dibenzoat [bei 51 *A*, sonst *D*].

51	0,57370	—	30,3	21,05°	1,5335°	0,0040°	1,5515°	2801,1	7522.1
52	0,45730	0,09290	1058,9	21,05	1,5860	55	1,6060	2801,1	7521.7
53	0,45205	0,08975	1026,7	21,05	1,5625	35	1,5805	2801,1	7522.2
54	0,47755	0,05885	680,9	20,95	1,5075	45	1,5255	2801,1	7523,3
			Mittel:	21,05°					7522.3

G. A. M.: 1,0 cal. = *0,15*‰ M. A. M.: 0,3 cal. = *0,05*‰

Cyclohexan-cis-1,2-diol-dibenzoat [*A*].

55	0,65760	—	30,0	21,05°	1,5785°	0,0075°	1,6000°	3051,2	7378,5
56	0,65315	—	39,2	21,05	1,5725	60	1,5925	3051,2	7379,0
57	0,64040	—	29,3	20,95	1,5395	55	1,5590	3051,2	7382.2
58	0,64160	—	27,8	21,0	1,5400	60	1,5600	3051,2	7375.6
			Mittel:	21,0°					7378.8

G. A. M.: 3,4 cal. = *0,45*‰ M. A. M.: 1,4 cal. = *0,20*‰

Cyclohexan-trans-1,2-diol-dibenzoat [*A*].

59	0,60500	—	33,0	21,0°	1,4525°	0,0060°	1,4715°	3051,2	7366,5
60	0,64075	—	32,6	21,0	1,5385	60	1,5585	3051,2	7370.4
61	0,60100	—	30,6	20,85	1,4430	50	1,4610	3051,2	7366.2
62	0,65245	—	32,3	21,0	1,5645	70	1,5855	3051,2	7364,9
			Mittel:	20,95°					7367,0

G. A. M.: 3,4 cal. = *0,45*‰ M. A. M.: 1,2 cal. = *0,15*‰

1-Methylcyclohexan-trans-1,2-diol-dibenzoat [bei 63 *A*, sonst *D*].

63	0,65215	—	18,6	21,0°	1,5945°	0,0050°	1,6140°	3051,2	7522.9
64	0,52380	0,08825	993,9	21,05	1,5985	50	1,6180	3051,2	7527,5
65	0,52170	0,08595	967,2	20,95	1,5840	50	1,6035	3051.2	7524,6
66	0,51400	0,09410	1055,8	20,95	1,5915	70	1,6130	3051,2	7520.7
67	0,50295	0,09320	1043,3	20,9	1,5620	65	1,5825	3051,2	7526,3
68	0,49495	0,09355	1046,9	20,95	1,5440	60	1,5635	3051,2	7522,9
			Mittel:	20,95°					7524.2

G. A. M.: 3,5 cal. = *0,45*‰ M. A. M.: 1,0 cal. = *0,15*‰

Die Konfiguration der untersuchten Dibenzoate.

Die quantitative Verseifung der von uns zum erstenmal dargestellten Dibenzoate ergab die folgenden Resultate[1]):

Cyclopentan-cis-1,2-diol-dibenzoat.

0,2234 g → *14,5* ccm 0,1 n-KOH; ber. 14,42 ccm.

Cyclopentan-trans-1,2-diol-dibenzoat.

0,2362 g → *15,2* ccm 0,1 n-KOH; ber. 15,24 ccm.

1-Methylcyclopentan-trans-1,2-diol-dibenzoat.

0,2437 g → *15,1* ccm 0,1 n-KOH; ber. 15,04 ccm.

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-dibenzoat.

0.2136 g → *11,5* ccm 0,1 n-KOH; ber. 11,48 ccm.

[1]) Analysen von W. J. van der Lee.

Digitized by Google

1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-trans-1,2-diol-dibenzoat.
0,2692 g → *14,5* ccm 0,1 n-KOH; ber. 14,47 ccm.

1-Methylcyclohexan-trans-1,2-diol-dibenzoat.
0,2526 g → *14,9* ccm 0,1 n-KOH; ber. 14,95 ccm.

Auch das *Cyclohexan-cis-1,2-diol-dibenzoat*, dessen Schmelzpunkt, wie wir ihn fanden, auf merkwürdige Weise von dem von Brunel erwähnten abwich, ergab bei Verseifung sehr gute Resultate:

0,2836 g → *17,6* ccm 0,1 n-KOH; ber. 17,51 ccm.

Daß bei dem Benzoylieren der Diole mit Benzoylchlorid Dibenzoate mit gleicher stereochemischer Konfiguration entstehen, ist wohl höchstwahrscheinlich; denn bei dieser Reaktion wirken ja, formelgemäß betrachtet, die asymmetrischen Kohlenstoffatome nicht mit. Ebenso wie in Mitteilung XVII[1]) für einige Diacetate haben wir jetzt auch für einige Dibenzoate (nl. *Cyclohexan-cis-1,2-diol-dibenzoat, 1-Methylcyclohexan-trans-1,2-diol-dibenzoat* und *1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-dibenzoat*) nachgewiesen, daß bei alkalischer Verseifung das ursprüngliche Diol mit fast quantitativer Ausbeute zurückerhalten wird; dasselbe war schon von van Loon[2]) für *Hydrinden-cis-1,2-diol-dibenzoat* konstatiert. Hieraus ergibt sich, daß beide Prozesse — Benzoylierung und Verseifung — entweder mit oder ohne Konfigurationsänderung verlaufen. Der zweite Fall ist dann zweifellos wieder bei weitem der wahrscheinlichste.

Die Verseifung der Dibenzoate erfolgte in genau derselben Weise wie die der Acetate.

a) Das bei Verseifung von Cyclohexan-cis-1,2-diol-dibenzoat erhaltene rohe Diol schmolz bei (99,0°) 99,2—99,4°. Der Mischschmelzpunkt mit reinem cis-Diol war vollkommen unverändert, während bei Mischung mit trans-Diol eine beträchtliche Schmelzpunktsdepression stattfand.

b) Das bei Verseifung von 1-Methylcyclohexan-trans-1,2-diol-dibenzoat erhaltene rohe Diol schmolz bei (83,0°) 84,0—85,0° und erwies sich als vollkommen reines trans-Diol.

c) Das Verseifungsprodukt von 1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin-cis-1,2-diol-dibenzoat schmolz bei (101,5°) 103,0—103,4° und war vollkommen reines cis-Diol.

[1]) A. 477, 287 (1930).
[2]) Dissertation Delft, 1919, S. 25, 65 (Anm.).

(Abgeschlossen am 6. Januar 1930.)

Digitized by Google